

Etude en spectroscopie rmn 31p de la myopathie hypothyroidienne

Marc Klein

▶ **To cite this version:**

Marc Klein. Etude en spectroscopie rmn 31p de la myopathie hypothyroidienne. Sciences du Vivant [q-bio]. 1990. hal-01738870

HAL Id: hal-01738870
https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01738870

Submitted on 20 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

74429

DOUBLE

UNIVERSITÉ DE NANCY I
BIBLIOTHÈQUE
Section de Médecine

FACULTÉ DE MÉDECINE
1990
N° 211

ETUDE EN SPECTROSCOPIE RMN ^{31}P DE LA MYOPATHIE HYPOTHYROIDIENNE

Thèse

Présentée et soutenue publiquement

Le 4 OCTOBRE 1990

pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MEDECINE

par

Marc KLEIN

Interne des Hôpitaux

né le 17 août 1960 à STRASBOURG

Examinateurs de la thèse : MM. M. DUC Professeur Président
P. HARTEMANN Professeur)
J. LECLERE Professeur) Juges
J. ROBERT Professeur)
P. KAMINSKY Docteur)

V

00704729 99



UNIVERSITE NANCY I
1990

FACULTE DE MEDECINE
N°

UNIVERSITE de Nancy
BIBLIOTHEQUE
Section de Médecine

ETUDE EN SPECTROSCOPIE RMN ^{31}P DE LA MYOPATHIE HYPOTHYROIDIENNE

Thèse

Présentée et soutenue publiquement

Le 4 OCTOBRE 1990

pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MEDECINE

par

Marc KLEIN

Interne des Hôpitaux

né le 17 août 1960 à STRASBOURG

Examinateurs de la thèse :	MM.	M. DUC	Professeur	Président
		P. HARTEMANN	Professeur)	
		J. LECLERE	Professeur)	Juges
		J. ROBERT	Professeur)	
		P. KAMINSKY	Docteur)	

UNIVERSITE DE NANCY 1

FACULTE DE MEDECINE DE NANCY

Président de l'Université : Professeur M. BOULANGE

Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur F. STREIFF

Assesseurs

du 1er Cycle :	**Docteur X. HERBEUVAL** (M.C.U.)
du 2ème Cycle :	**Professeur D. ANTHOINE**
du 3ème Cycle :	**Professeur J. ROLAND**
chargé des batiments et des finances :	**Professeur M. SCHMITT**

DOYENS HONORAIRES

Professeur A. BEAU - Professeur A. DUPREZ - Professeur J.B. DUREUX - Professeur G. GRIGNON

PROFESSEURS HONORAIRES

C. FRANCK - P. BERTRAND - N. NEIMANN - A. BEAU - L. PIERQUIN - A. DOLLANDER - J. CAYOTTE
J. CORDIER - E. LEGAIT - J. LOCHARD - C. BURG - R. HERBEUVAL - G. FAIVRE - J.M. FOLIGUET
J.M. PICARD - G. RAUBER - P. SADOUL - R. SENAULT - P. ARNOULD - G. de REN
R. BENICHOUX - M. RIBON

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

(Disciplines du Conseil National des Universités)

37ème Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE

7ème sous-section : *(Biochimie et Biologie appliquées)*

Professeur D. BURNEL

42ème Section : SCIENCES MORPHOLOGIQUES

1ère sous-section : *(Anatomie)*

Professeur M. RENARD - Professeur J. ROLAND - Professeur G. GROSDIDIER

2ème sous-section : *(Histologie et Embryologie)*

Professeur G. GRIGNON - Professeur H. GERARD - Professeur B. FOLIGUET

3ème sous-section : *(Anatomie pathologique)*

Professeur A. DUPREZ - Professeur J. FLOQUET - Professeur F. PLENAT

43ème Section : BIOPHYSIQUE ET RADIOLOGIE

1ère sous-section : *(Biophysique)*

Professeur A. BERTRAND - Professeur J. ROBERT - Professeur G. KARCHER

2ème sous-section : *(Radiologie)*

Professeur A. TREHEUX (Mme) - Professeur P. BERNADAC - Professeur J.C. HOEFFEL
Professeur L. PICARD - Professeur D. REGENT - Professeur M. CLAUDON

44ème Section : BIOCHIMIE, PHYSIOLOGIE et BIOLOGIE CELLULAIRE

1ère sous-section : *(Biochimie)*

Professeur P. PAYSANT - Professeur P. NABET - Professeur J.P. NICOLAS - Professeur F. NABET (Mme)

2ème sous-section : *(Physiologie)*

Professeur M. BOULANGE - Professeur M. BOURA - Professeur J.P. CRANCE
Professeur J.P. MALLIE - Professeur H. UFFHOLTZ

3ème sous-section : *(Biologie cellulaire)*

Professeur C. BURLET

45ème Section : MICROBIOLOGIE ET MALADIES TRANSMISSIBLES

1ère sous-section : *(Bactériologie, Virologie, Hygiène)*

Professeur E. de LAVERGNE - Professeur J.C. BURDIN

2ème sous-section : *(Parasitologie)*

Professeur G. PERCEBOIS

3ème sous-section : *(Maladies infectieuses et tropicales)*

Professeur J.B. DUREUX - Professeur Ph. CANTON

46ème Section : SANTE PUBLIQUE

1ère sous-section : *(Epidémiologie, économie de la santé et prévention)*

Professeur M. MANCIAUX - Professeur J.P. DESCHAMPS - Professeur Ph. HARTEMANN

(Biostatistique et informatique médicale)

Professeur B. LEGRAS - Professeur F. KOHLER

2ème sous-section : *(Médecine du travail)*

Professeur G. PETIET

3ème sous-section : *(Médecine légale)*

Professeur H. COUDANE

47ème Section : HEMATOLOGIE, CANCEROLOGIE, IMMUNOLOGIE ET GENETIQUE

1ère sous-section : *(Hématologie)*

Professeur F. STREIFF - Professeur P. ALEXANDRE - Professeur C. JANOT

(Génie biologique et médical)

Professeur J.F. STOLTZ

2ème sous-section : *(Cancérologie)*

Professeur C. CHARDOT - Professeur F. GUILLEMIN

(Radiothérapie)

Professeur P. BEY

3ème sous-section : *(Immunologie)*

Professeur J. DUHEILLE - Professeur G. FAURE

4éme sous-section : *(Génétique)*

Professeur M. PIERSON - Professeur S. GILGENKRANTZ (Mme)

48ème Section : ANESTHESIOLOGIE, PHARMACOLOGIE, REANIMATION ET THERAPEUTIQUE

1ère sous-section : *(Anesthésiologie et réanimation chirurgicale)*

Professeur J. LACOSTE - Professeur M.C. LAXENAIRE (Mme) - Professeur J.P. HABERER

2ème sous-section : *(Réanimation médicale)*

Professeur A. LARCAN - Professeur H. LAMBERT - Professeur N. DELORME

3ème sous-section : *(Pharmacologie fondamentale, Pharmacologie clinique)*

Professeur R.J. ROYER - Professeur P. NETTER

(Thérapeutique)

Professeur F. PAILLE

49ème Section : PATHOLOGIE NERVEUSE, PATHOLOGIE MENTALE et REEDUCATION

1ère sous-section : *(Neurologie)*

Professeur Michel WEBER - Professeur G. BARROCHE - Professeur H. VESPIGNANI

2ème sous-section : *(Neurochirurgie)*

Professeur J. LEPOIRE - Professeur H. HEPNER - Professeur J.C. MARCHAL - Professeur J. AUQUE

3ème sous-section : *(Psychiatrie d'adultes)*

Professeur M. LAXENAIRE

4ème sous-section : *(Pédopsychiatrie)*

Professeur P. TRIDON - Professeur C. VIDAILHET (Mme)

5ème sous-section : *(Rééducation fonctionnelle)*

Professeur J.M. ANDRE

50ème Section : PATHOLOGIE OSTEO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE et CHIRURGIE PLASTIQUE

1ère sous-section : *(Rhumatologie)*

Professeur A. GAUCHER - Professeur J. POUREL

2ème sous-section : *(Chirurgie orthopédique et traumatologie)*

Professeur J. SOMMELET - Professeur D. SCHMITT - Professeur J.P. DELAGOUTTE - Professeur D. MOLE

3ème sous-section : *(Dermatologie)*

Professeur J. BEUREY - Professeur Max WEBER

4ème sous-section : *(Chirurgie plastique et reconstructive)*

Professeur M. MERLE

51ème Section : PATHOLOGIE CARDIO-PULMONAIRE et VASCULAIRE

1ère sous-section : *(Pneumologie)*

Professeur P. LAMY - Professeur D. ANTHOINE - Professeur G. VAILLANT - Professeur J.M. POLU

2ème sous-section : *(Cardiologie et maladies vasculaires)*

Professeur J.M. GILGENKRANTZ - Professeur F. CHERRIER - Professeur E. ALIOT

3ème sous-section : *(Chirurgie thoracique et cardiaque)*

Professeur P. MATHIEU - Professeur J.P. VILLEMOT

4ème sous-section : *(Chirurgie vasculaire)*

Professeur G. FIEVE

52ème Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF et URINAIRE

1ère sous-section : *(Hépatologie, gastro-entérologie)*

Professeur P. GAUCHER - Professeur M.A. BIGARD

2ème sous-section : *(Chirurgie digestive)*

-

3ème sous-section : *(Néphrologie)*

Professeur C. HURIET - Professeur M. KESSLER (Mme)

4ème sous-section : *(Urologie)*

Professeur P. GUILLEMIN - Professeur J. L'HERMITE

53ème Section : MEDECINE INTERNE et CHIRURGIE GENERALE

1ère sous-section : *(Médecine interne)*

Professeur G. CUNY - Professeur J. SCHMITT - Professeur J.P. GRILLIAT - Professeur O. GUERCI
Professeur M. DUC - Professeur G. THIBAUT - Professeur F. PENIN
Professeur D. MONERET-VAUTRIN (Mme) - Professeur P. LEDERLIN

2ème sous-section : *(Chirurgie générale)*

Professeur J. GROSDIDER - Professeur R. FRISCH - Professeur P. BOISSEL - Professeur J. BORRELLY

54ème Section : PATHOLOGIE DE L'ENFANT, OBSTETRIQUE, SYSTEME ENDOCRINIEN REPRODUCTION, DEVELOPPEMENT

1ère sous-section : *(Pédiatrie)*

Professeur P. VERT - Professeur D. SOMMELET (Mme) - Professeur M. VIDAILHET - Professeur P. MONIN

2ème sous-section : *(Chirurgie infantile)*

Professeur J. PREVOT - Professeur M. SCHMITT

3ème sous-section : *(Gynécologie et obstétrique)*

Professeur P. LANDES - Professeur M. SCHWEITZER - Professeur J.L. BOUTROY - Professeur Ph JUDLIN

4ème sous-section : *(Endocrinologie et maladies métaboliques)*

Professeur P. HARTEMANN - Professeur G. DEBRY - Professeur J. LECLERE - Professeur P. DROUIN

5ème sous-section : *(Biologie du développement et de la reproduction)*

55ème Section : SPECIALITES MEDICO-CHIRURGICALES

1ère sous-section : *(Oto-rhino-laryngologie)*

Professeur M. WAYOFF - Professeur C. PERRIN - Professeur C. SIMON

2ème sous-section : *(Ophtalmologie)*

Professeur A. RASPILLER - Professeur J.L. GEORGE

3ème sous-section : *(Stomatologie et chirurgie maxillofaciale)*

Professeur M. STRICKER - Professeur J.F. CHASSAGNE

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

42ème Section : SCIENCES MORPHOLOGIQUES

1ère sous-section : *(Anatomie)*

Docteur LASCOMBES

2ème sous-section : *(Histologie et Embryologie)*

Docteur LEHEUP - Docteur GRIGNON (Mme) - Docteur CORDONNIER - Docteur BARRAT
Docteur GUEDENET - Docteur TOUATI (Mme)

3ème sous-section : *(Anatomie pathologique)*

Docteur FERRAND (Mme) - Docteur VIGNAUD

43ème Section : BIOPHYSIQUE ET RADIOLOGIE

1ère sous-section : *(Biophysique)*

Docteur GEORGES (Mme) - Docteur VAILLANT (Mme) - Docteur LAURENS (Mme) - Docteur NAOUN - Docteur MAYER - Docteur THOUVENOT - Docteur BRUNOTTE - Docteur ESCANYE

44ème Section : BIOCHIMIE, PHYSIOLOGIE et BIOLOGIE CELLULAIRE

1ère sous-section : *(Biochimie)*

Docteur GELOT (Mme) - Docteur HERBEUVAL - Docteur STRACZEK - Docteur GUEANT

2ème sous-section : *(Physiologie)*

Docteur ETHEVENOT - Docteur MARCHAL - Docteur LEMAU de TALANCE (Mme)

45ème Section : MICROBIOLOGIE ET MALADIES TRANSMISSIBLES

1ère sous-section : *(Bactériologie, Virologie, Hygiène)*

Docteur GEORGES - Docteur MORY (Mme) - Docteur WEBER (Mme) - Docteur LION (Mme) Docteur DAILLOU (Melle) - Docteur CATELLE (Melle)

2ème sous-section : *(Parasitologie)*

Docteur BIAVA (Melle) - Docteur KURES (Mme) - Docteur CONTET-AUDONNEAU (Mme)

47ème Section : HEMATOLOGIE, CANCEROLOGIE, IMMUNOLOGIE ET GENETIQUE

1ère sous-section : *(Hématologie)*

Docteur HUMBERT - Docteur SCHOONEMAN

3ème sous-section : *(Immunologie)*

Docteur BENE (Melle)

48ème Section : ANESTHESIOLOGIE, PHARMACOLOGIE, REANIMATION ET THERAPEUTIQUE

1ère sous-section : *(Anesthésiologie et réanimation chirurgicale)*

Docteur MEYER (Mme) - Docteur HELMER (Melle)

3ème sous-section : *(Pharmacologie fondamentale, Pharmacologie clinique)*

Docteur ZANNAD - Docteur BANNWARTH - Docteur LAPICQUE (Mme) - Docteur ROYER-MORROT (Mme)

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

42ème Section : SCIENCES MORPHOLOGIQUES

2ème sous-section : *(Histologie et Embryologie)*

Monsieur GELLY J.L. - Madame GERARD A.

44ème Section : BIOCHIMIE, PHYSIOLOGIE et BIOLOGIE CELLULAIRE

3ème sous-section : *(Biologie cellulaire)*

Monsieur TANKOSIC P.

DOCTEURS HONORIS CAUSA

Professeur M. CHEVREMONT (1962)
Université de Liège (Belgique)

Professeur Jean J. PASTEELS (1972)
Université libre, Bruxelles (Belgique)

Professeur Norman SHUMWAY (1972)
Université de Stanford, Californie (U.S.A.)

Professeur Curt CUPPERS (1977)
Université de Giessen (R.F.A.)

Professeur Paul MICHIELSEN (1979)
Université Catholique, Louvain (Belgique)

Professeur Charles A. BERRY (1982)
Centre de Médecine Préventive, Houston (U.S.A.)

Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982)
Brown University, Providence (U.S.A.)

Professeur Mamish Nisbet MUNRO (1982)
Massachusetts Institute of Technology (U.S.A.)

Professeur Mildred T. STAHLMAN (1982)
Vanderbilt University, Nashville (U.S.A.)

Professeur Harry J. BUNCKE (1989)
Université de Californie, San Francisco (U.S.A.)

Professeur Heinrich SCHIEBLER (1989)
Institut d'Anatomie de Würtzburg (R.F.A.)

A notre Président de Thèse

Monsieur le Professeur M. DUC
Professeur de Médecine Interne

Notre Maître

Lorsque la superbe intelligence revêt l'atour de la simplicité et que la connaissance ineffable est prodiguée à vos disciples de manière généreuse et désintéressée, l'honneur d'être du nombre de vos élèves est aisément concevable. L'art médical que vous possédez à la perfection m'a permis, lors de mon séjour dans votre Service, d'admirer la performance d'un esprit de synthèse clair et structuré, mis à la disposition d'une analyse séméiologique sans faille et d'un raisonnement rigoureux. Vous n'en demeurez pas moins humain et chaleureux avec vos patients et vos collaborateurs et la touche d'humour que vous ne manquez jamais d'intégrer à vos propos souligne cette vertu rare et épanouissante pour votre entourage : un humanisme exceptionnel.

Nous vous prions de considérer ce travail, que vous avez proposé et guidé avec indulgence comme le témoignage de notre profonde estime.

A Notre Juge

Monsieur le Professeur P. HARTEMANN

Professeur d'Endocrinologie et des Maladies Métaboliques

Officier dans l'ordre des Palmes Académiques

Nos différents stages d'Interne effectués sous votre égide bienveillante, nous ont permis d'apprécier la précision de votre sens clinique, l'excellence de vos décisions, toujours dictées par le souci du malade et vos immenses qualités humaines. Votre sens didactique nous a toujours dérouté, tant une matière aussi subtile que l'Endocrinologie peut paraître limpide dans vos explications. Voilà la qualité première de l'enseignant, ce qui ne masque pas cependant votre affabilité et votre compréhension.

Nous vous remercions d'avoir accepté de juger cette thèse et vous prions de croire en notre féale reconnaissance.

A notre Juge

Monsieur le Professeur J. LECLERE

Professeur d'Endocrinologie et des Maladies Métaboliques

Vos connaissances médicales exceptionnelles nous ont toujours ravi, car affable et cordial, vous avez toujours accepté de les partager avec vos élèves. D'une grande disponibilité face à de multiples sollicitations qui corroborent vos immenses qualités médicales, vous n'en demeurez pas moins amène et rigoureux. La précision de votre diagnostic n'a d'égal que votre esprit de synthèse et de recherche scientifique.

Veuillez croire à notre sincère gratitude d'avoir accepté de siéger à notre thèse.

A notre Juge

Monsieur le Professeur J. ROBERT

Professeur de Biophysique

Chevalier dans l'Ordre National du Mérite

Vous nous avez fait l'honneur de nous recevoir au sein de votre équipe et de votre Laboratoire pour mener à bien notre travail. Nous vous remercions pour vos conseils très précieux et votre bienveillance à notre égard. D'une grande courtoisie et alliant la compétence médicale à la rigueur du physicien, vous nous avez autorisé à tenter une approche nouvelle pour nous de la Médecine. En effet, la confrontation entre les Sciences Fondamentales et la Médecine Appliquée nous a ouvert des horizons insoupçonnés et passionnants, et nous vous en serons toujours reconnaissant.

Nous vous prions de bien vouloir trouver dans ce travail l'expression de notre profond respect.

A notre Juge

Monsieur le Docteur P. KAMINSKY

Praticien Hospitalier

Sans le soutien d'un ami aussi cultivé que disponible, notre travail ne serait pas. Des conseils toujours judicieux, des remarques d'excellent aloi ont permis d'obtenir des améliorations substantielles . Ta participation à l'élaboration de ce travail a été particulièrement efficace.

Merci Pierre de ton aide précieuse.

A nos Maîtres dans l'Externat

Monsieur le Professeur STORK

Monsieur le Professeur GEISERT

Monsieur le Professeur BUCK

Monsieur le Professeur HOLLENDER

Monsieur le Professeur GROSSHANS

Monsieur le Professeur JAEGER

Monsieur le Professeur HAEGELE

A nos Maîtres dans l'Internat

Monsieur le Professeur CANTON

Dont la rigueur dans l'art de l'antibiothérapie est un modèle de rigueur médicale

Monsieur le Professeur DROUIN

pour sa bienveillance à notre égard. Sa qualité d'Interniste n'a rien à envier à celle d'exceptionnel Diabétologue. Travailler dans un service de pointe comme celui de Médecine G a été un enrichissement permanent.

Messieurs les Docteurs GEISLER et HAMMANN

Mes premiers Maîtres dans l'Internat. Tant de compréhension mis simplement au service du malade mérite toute notre estime

A tous ceux qui, avec leurs qualités intrinsèques ont guidé notre formation clinique et humaine :

Monsieur le Professeur JAECK

Monsieur le Professeur DUREUX

Mesdames les Docteurs HYM et SCHACK

Messieurs les Docteurs ROSS, CAPOLAGHI et COVI

Monsieur le Docteur CHALLAN-BELLEVAL

Monsieur le Docteur CHRISTMAN

Monsieur le Docteur PASQUALI

Monsieur le Docteur BLICKLE

Monsieur le Docteur PFLUMIO

Monsieur le Docteur LOTH

Monsieur le Docteur LECOQ

Monsieur le Docteur MAY

Monsieur le Docteur GERARD

Monsieur le DocteurVERYHA

Madame le Docteur MOREL

Madame le Docteur GUERIN

Madame le Docteur GOUDOT

Madame le Docteur GOT

Madame le Docteur KOLOPP

Monsieur le Docteur SIMON

A tout le personnel médical et paramédical qui a partagé mes activités

A nos amis de l'Internat

A nos amis de l'Externat

A Madame le Docteur B. ROBIN-LHERBIER

Pour son aide précieuse durant les manipulations, sa compétence et sa gentillesse.

A Madame et Monsieur ESCANYE

Pour leurs conseils et leurs recommandations enrichissantes

A Monsieur le Docteur WALKER

A Madame COLOPI

pour sa frappe rapide et efficace et sa disponibilité

A Françoise

A mes Parents

A Jacqueline et Claude

A toute ma Famille

A tous mes Amis.

SERMENT

Sur ma conscience, en présence de mes Maîtres et de mes condisciples, je jure d'exercer la Médecine suivant les lois de la morale et de l'honneur, et de pratiquer scrupuleusement tous mes devoirs envers les Malades, mes Confrères et la Société.

UNIVERSITE de NANCY I
BIBLIOTHEQUE
Section de Médecine

RESUME

Dans une étude spectroscopique ^{31}P-RMN, nous avons étudié, in vivo, le muscle strié squelettique de 4 groupes de rats : 3 groupes de 12 rats rendus hypothyroïdiens par l'administration de propylthiouracile pendant respectivement 2, 4 et 6 semaines et 1 groupe de rats témoins, indemnes de toute endocrinopathie.

Au repos, les rats hypothyroïdiens présentaient une acidose musculaire plus prononcée. A l'effort, nous constations chez les rats intoxiqués, une consommation sensiblement supérieure de phosphocréatine et vraisemblablement d'ATP, ainsi que la production de phosphodiesters de signification encore hypothétique. Lors de la récupération, la régénération de la phosphocréatine était considérablement ralentie par rapport au groupe témoin.

L'ensemble de ces constatations fait évoquer une altération des phosphorylations oxydatives, ce qui nous incite à considérer la myopathie hypothyroïdienne comme une myopathie mitochondriale acquise, d'installation précoce, puisque nous observons les principaux stigmates spectroscopiques dès 2 semaines d'intoxication par l'antithyroïdien de synthèse.

MOTS CLES

SPECTROSCOPIE ^{31}P-RMN
MUSCLE - HYPOTHYROIDIE
ETUDE EXPERIMENTALE
MYOPATHIES MITOCHONDRIALES

SOMMAIRE

UNIVERSITE de NANCY
BIBLIOTHEQUE
Section de Médecine

INTRODUCTION 3

1. La myopathie hypothyroïdienne 6

1.1. Bref aperçu historique *7*

1.2. Manifestations musculaires fréquemment rencontrées dans l'hypothyroïdie *8*

1.2.1. Présentation habituelle 8

1.2.2. La forme hypertrophique classique du syndrome myohypothyroïdien 9

1.2.2.1. Signes fonctionnels *9*

1.2.2.2. Signes objectifs *9*

1.2.3. La forme atrophique 10

1.2.4. Les formes frustes et dissociées 11

1.2.5. Les formes mixtes atropho-hypertrophiques 11

1.2.6. Le syndrome de DEBRE-SEMELAIGNE 11

1.3. Autres manifestations musculaires de l'hypothyroïdie *12*

1.3.1. Déficit oculomoteur 12

1.3.2. Myasthénie 12

1.3.3. Formes rares 12

1.4. Evolution *12*

1.5. Examens complémentaires *13*

1.5.1. Biologie 13

1.5.2. Etude électrique 14

1.5.2.1. Les anomalies de caractère myopathique *14*

1.5.2.2. Les anomalies de caractère myotonique *15*

1.5.3. Réflexogramme achilléen 15

1.5.4. Anatomie pathologique 15

2. Principes de spectroscopie RMN **16**

2.1. Principes de base ***17***

2.2. Description des phénomènes ***18***

2.3. Intérêt de la technique ***19***

2.3.1. Introduction 19

2.3.2. RMN du 31 P 19

2.3.2.1. Les métabolites cellulaires phosphorés *20*

2.3.2.2. Les réactions chimiques intracellulaires *20*

2.3.3. Informations obtenues par l'utilisation de la spectroscopie 31 P RMN sur un système vivant 20

2.3.3.1. Informations qualitatives : identification des métabolites phosphorés *21*

2.3.3.2. Information quantitative *21*

2.3.3.3. Revue du pH intracellulaire *22*

2.3.3.4. Compartimentation intracellulaire *22*

2.3.3.5. Enzymologie in vivo *23*

2.4. Spectre type obtenu par l'étude RMN du 31 P du muscle strié squelettique ***23***

2.4.1. Introduction 23

2.4.2. Spectre du 31 P du muscle strié au repos 23

2.4.2.1. Rappels *23*

2.4.2.2. Le spectre *24*

2.4.3. Modification du spectre à l'exercice 26

2.5. Paramètres étudiés ***28***

2.6. Limites de la technique RMN ***29***

2.6.1. Aspect économique 29

2.6.2. Problèmes liés à l'utilisation d'un champ magnétique intense 29

2.6.2.1. Dans l'enceinte du spectroscope RMN *29*

2.6.2.2. Aux alentours du spectroscope RMN *30*

2.6.2.3. Altérations cellulaires *30*

2.6.3. Reproductibilité de la technique 30

2.6.4. Localisation en profondeur 30

2.6.5. Résolution temporelle 31

2.6.6. Résolution spatiale 31

2.6.7. Mouvements entre la bobine et le muscle 32

3. Matériels et méthodes 33

3.1. Introduction *34*

3.2. Animaux *34*

3.3. Spectromètre *34*

3.4. Substances pharmaceutiques *36*

3.5. Dosages biologiques *36*

3.6. Méthodes *36*

3.6.1. Animaux 36

3.6.2. Préparation à la spectroscopie 39

3.6.2.1. Anesthésie et pesée *39*

3.6.2.2. Installation des rats *39*

3.6.2.3. Stimulation *39*

3.6.2.4. Obtention des spectres *40*

3.6.2.5. Sacrifice de l'animal *42*

3.6.2.6. Dosages plasmatiques *42*

3.6.2.7. Analyse des résultats *43*

3.6.2.8. Analyses statistiques *45*

3.7. Justification du protocole *45*

3.7.1. Choix de la stimulation 45

3.7.2. Durée du protocole 46

4. Résultats 47

4.1. Effets cliniques ***48***

4.2. Résultats biologiques ***48***

4.3. Résultats spectroscopiques ***50***

4.3.1. Résultats spectroscopiques du muscle au repos 50

4.3.2. Modifications spectroscopiques observées à l'effort 58

4.3.3. Modifications spectroscopiques de récupération 59

5. Discussion 68

5.1. Intérêt de notre étude ***69***

5.2. Examen critique de notre travail ***70***

5.2.1. Méthodologie 70

5.2.1.1. A propos des conditions expérimentales *71*

5.2.1.2. A propos du recueil des spectres *72*

5.2.1.3. A propos des dosages hormonaux *72*

5.2.2. Résultats 73

5.2.2.1. pH Intracellulaire *73*

5.2.2.2. Rapports PCr/Pi et PCr/(PCr + Pi) *82*

5.2.2.3. Rapport PCr/ATP *100*

5.2.2.4. Rapport Pi/ATP *106*

5.2.2.5. Rapport PDE/ATP *108*

5.2.2.5.1. Que représentent les phosphodiesters (PDE) ? 109

5.2.2.5.2. Que signifie un pic de PDE en pathologie ? 110

5.2.2.5.3. Importance des PDE dans la myopathie hypothyroïdienne 110

5.2.2.6. Rapport Pm/ATP *111*

5.3. Synthèse et hypothèses. ***112***

6. Conclusion **121**

7. Annexe **124**

7.1. Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire ***125***

7.1.1. Introduction 125

7.1.2. Principes de résonance magnétique nucléaire 126

7.1.2.1. Introduction - Historique *126*

7.1.2.2. Principes fondamentaux de la RMN *127*

7.1.2.2.1. Notion de champ et de moment 127

7.1.2.2.2. Propriétés nucléaires 127

7.1.2.2.3. Interaction des noyaux avec les champs magnétiques 129

7.1.2.2.4. Orientation du moment 130

7.1.2.2.5. Energie d'interaction 131

7.1.2.3. Mouvement de précession 131

7.1.2.4. Notion générale de résonance 132

7.1.2.5. Résonance magnétique nucléaire 133

7.1.2.6. Effet des populations à l'échelle macroscopique 140

7.1.2.7. RMN à impulsions 142

7.1.2.7.1. Introduction 142

7.1.2.7.2. Principe de la méthode 143

7.2. Paramètres physiques de la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (spectroscopie RMN) 148

7.2.1. Fréquence de résonance caractéristiques des différents noyaux 148

7.2.2. Constante de couplage spin-spin 149

7.2.3. Temps de relaxation 150

7.2.4. Largeur des pics 151

7.3. Spectromètres RMN 152

7.3.1. Les spectromètres RMN haute résolution 152

7.3.2. Les spectromètres RMN moyenne résolution pour les études "in vivo" 153

7.4. RMN du 31 P : avantages de cette spectroscopie 153

7.4.1. Sensibilité intrinsèque 153

7.4.2. Gamme de déplacement chimique- résolution 154

UNIVERSITE de NANCY
BIBLIOTHEQUE
Section de Médecine

7.4.3. Simplicité des spectres 154

7.4.4. Sensibilité à l'environnement 154

7.4.4.1. pH local *154*

7.4.4.2. Chélation avec les ions métalliques *155*

7.4.5. Sensibilité à la conformation 155

7.4.6. Paramètres de relaxation 155

7.5. Résultats des diverses variables obtenues en spectroscopie RMN du phosphore 31 dans les différents groupes. *157*

BIBLIOGRAPHIE

UNIVERSITE de Nancy I
BIBLIOTHEQUE
Section de médecine

LISTE DES FIGURES

Figure 1
Spectre du muscle strié squelettique au repos p. 25

Figure 2
Modification du spectre à l'exercice
Exemple de spectres ^{31}P successifs recueillis au repos à l'effort et à la récupération p. 27

Figure 3
Infrastructure informatique et appareillage RMN du Laboratoire de Biophysique de la Faculté de Médecine de NANCY p. 35

Figure 4
Protocole d'administration du P.T.U. chez le rat p. 38

Figure 5
Spectre ^{31}P type de muscle strié squelettique au repos p. 44

Figure 6
Evolution du pH intracellulaire en cours d'excitation p. 51

Figure 7
Evolution du rapport PCr/Pi en cours d'excitation p. 52

Figure 8
Evolution du rapport PCr/(PCr + Pi) en cours d'excitation p. 53

Figure 9
Evolution du rapport PCr/ATP en cours d'excitation p. 54

Figure 10
Evolution du rapport PDE/ATP pendant l'excitation p. 55

Figure 11
Evolution du rapport Pi/ATP durant l'excitation p. 56

Figure 12
Evolution du rapport Pm/ATP durant l'excitation p. 57

Figure 13
Evolution du pH intracellulaire lors de la récupération p. 60

Figure 14
Evolution du rapport PCr/Pi durant la récupération p. 61

Figure 15
Evolution du rapport PCr/(PCr + Pi) lors de la récupération p. 62

Figure 16
Evolution du rapport PCr/ATP pendant la récupération p. 63

Figure 17
Evolution du rapport PDE/ATP durant la récupération p. 64

Figure 18
Evolution du rapport Pi/ATP durant la récupération p. 65

Figure 19
Evolution du rapport Pm/ATP pendant la récupération p. 66

Figure 20
Le mécanisme de fonctionnement de la phosphocréatine
en tant que transporteur d'énergie p. 86

Figure 21
Evolution du rapport PCr/Pi en fonction de la sévérité de l'hypothyroïdie p. 89

Figure 22
Evolution de la dépense énergétique totale et mobilisation des principales sources d'énergie au cours d'un effort musculaire p.91/92

Figure 23
Evolution des concentrations d'ATP, de PCr et de lactates (en mmoles/kg de muscle frais) au repos, durant un exercice aérobie de bonne intensité et pendant la récupération p. 101

Figure 24
Evolution du rapport PCr/ATP en fonction de l'ancienneté de l'hypothyroïdie p. 105

Figure 25
Moment de la quantité de mouvement angulaire d'un noyau (I) ou spin p. 128

Figure 26
Moment magnétique nucléaire p. 129

Figures 27 et 28
Orientation des moments magnétiques dans un champ p. 130

Figure 29
Mouvement de précession d'un spin élémentaire ou d'une toupie p. 132

Figure 30
Mouvements de précession de moments magnétiques p. 135

UNIVERSITE DE NANCY

Figure 31
Principe de résonance p. 137

Figure 32
Echanges d'énergie entre une onde et le système champ-moment p. 139

Figure 33
Magnétisation résultante dans un système de coordonnées tournantes avec une vitesse ωo p. 145

Figure 34
Variation de l'aimantation résultante dans un système nucléaire soumis à l'action d'un champ magnétique $\vec{B}o$ et d'un champ magnétique tournant $\vec{B}1$ p. 146

Figure 35
Décroissance de la magnétisation résultante en fonction du temps pour un échantillon solide et liquide et spectres correspondants obtenus par transformation de Fourier p. 147

Figure 36
Orientations possibles des moments magnétiques nucléaires de deux noyaux A et B de spin : 1/2 dans la molécule A-B p. 149

BIBLIOTHEQUE Section de Médecine

LISTE DES ABREVIATIONS

ACTH	Hormone adrénocorticotrope
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADP	Adénosine di-phosphate
AMP	Adénosine mono-phosphate
AMPc	Adénosine mono-phosphate cyclique
ATP	Adénosine tri-phosphate
CPK	Créatine PhosphoKinase
CPT	Carnitine Palmityl-Transferase
EMG	Electromyogramme
FID	Free induction decay
FT3	Tri-iodothyronine libre
FT4	Thyroxine libre
GPC	Glycérophosphorylcholine
IRM	Imagerie par résonance magnétique
NADP	Nucléotide adénosine di-phosphate
PCr	Phosphocréatine
PDE	Phosphodiesters
pHi	pH intracellulaire
Pi	Phosphate inorganique
Pm	Phosphomonoesters
PP	Potentiel de phosphorylation
ppm	Partie par million
PTU	Propylthiouracile

Section de Médecine

RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
SEP	1-sérine éthalolamine phosphodiester
SPL	Signaux de précession libre
TSH	Hormone thyréo-stimulante
T3	Tri-iodothyronine
T4	Thyroxine : Tétraiodothyronine
2-3 DPG	2-3 diphosphoglycérate
31P RMN	Résonance Magnétique Nucléaire du Phosphore 31

INTRODUCTION

Section de Médec

L'atteinte musculaire est une des manifestations les plus anciennement connues du myxoedème (164). Elle en est également l'une des plus protéiforme. En effet, ne revêt-elle pas le masque tantôt d'une myopathie pseudohypertrophique, tantôt d'une atrophie d'origine neurogène, dans le contexte d'un syndrome canalaire par exemple, tantôt l'aspect d'une atteinte musculaire d'étiologie dysimmunitaire, telle que la myasthénie, voire encore d'une authentique myosite ? Cependant, la présentation la plus habituelle de l'atteinte musculaire du myxoedème est la myopathie. Celle-ci peut à son tour se manifester de diverses manières, dans des tableaux cliniques plus ou moins sévères, mais également demeurer asymptomatique.

Plusieurs ouvrages ont été consacrés à cette complication aussi riche du point de vue séméiologique que passionnante dans ses implications pathogéniques (67, 122, 173). Malgré tout, la myopathie hypothyroïdienne demeure imparfaitement connue et la place occupée par les hypothèses pathogéniques dans des ouvrages de référence comme MYOLOGY (73) ou THE THYROID (212) est restreinte et à cet égard symptomatique. De plus, si l'on compare les données de la littérature, de nombreuses contradictions peuvent être notées :

- ainsi, le métabolisme glucidique est classiquement ralenti mais il existe une consommation glycogénique accentuée à l'effort, qui de surcroit se manifeste par une lactatémie diminuée (76).

- les phosphorylations oxydatives mitochondriales sont altérées, mais le métabolisme est jugé plus efficace que chez le sujet normal (214).

Par ailleurs, nous sommes en présence d'une myopathie accessible à la thérapeutique. A notre connaissance, seules les myopathies d'origine endocrinienne et quelques rares myopathies mitochondriales sont accessibles, à l'heure actuelle, à une thérapeutique efficace.

Ces diverses inconnues ou incertitudes ont suscité notre intérêt et nous avons

BIBLIOTHEQUE
Section de Médecine

tenté, à l'occasion d'un travail expérimental, d'apporter quelques éclaircissements à trois interrogations principales :

- en définitive, existe-t-il des perturbations du métabolisme énergétique dans le muscle hypothyroïdien ?

- si la réponse à cette question est affirmative, alors quelles sont ces altérations ?

- enfin, à quel stade de l'insuffisance thyroïdienne peut-on déceler des anomalies ?

Compte tenu des contradictions signalées à propos des études anciennes faisant appel à des techniques invasives (biopsies musculaires) et à des dosages biochimiques in vitro, nous avons opté pour une approche expérimentale plus "physiologique". Nous disposons en effet, depuis plusieurs années, d'un nouvel outil de travail, particulièrement performant, nous permettant d'appréhender in vivo, au sein même des cellules, les métabolismes énergétiques, dans les conditions physiologiques ou lors d'états pathologiques. Ce progrès technologique est la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire ou spectroscopie RMN (74). C'est pourquoi il nous a paru intéressant de recourir à cette nouvelle technique d'investigation, pour essayer de définir un profil spectroscopique en RMN du phosphore 31 (31 P RMN) de la myopathie hypothyroïdienne.

Nous rappelerons donc, dans un premier temps, les principales manifestations cliniques et paracliniques de la myopathie hypothyroïdienne. Puis, après avoir redéfini les principes de la spectroscopie en ^{31}P RMN et de ses champs d'application les plus usuels, nous exposerons la méthodologie et les résultats d'une étude expérimentale que nous avons menée sur le muscle squelettique du rat hypothyroïdien.

Dans une ultime partie, nous discuterons ces résultats et les confronterons aux données de la littérature avant de conclure.

1. LA MYOPATHIE HYPOTHYROIDIENNE

BIBLIOTHEQUE
Section de Médec

I.1. BREF APERCU HISTORIQUE

L'atteinte musculaire de l'hypothyroïdie a été reconnue dès les premières descriptions du myxoédème. Ainsi, vers 1880, ORD (164) rapportant le cas d'une patiente hypothyroïdienne, décrivait les symptômes suivants :

"Sa force déclinait, ses activités mentales et physiques ralentissaient, ses mouvements devenaient de plus en plus lents, et les muscles du cou étaient affectés d'une faiblesse tout à fait remarquable. A la fin, elle ne pouvait plus redresser la tête, [.....] . Elle devint incapable de se relever depuis une position accroupie. Sa démarche était chancelante comme celle d'une personne saoule ; elle tombait souvent...".

C'est à MARFAN et GUINON en 1893 que revient le mérite d'avoir décrit la première forme pédiatrique de ce type d'atteinte (67).

En 1892, KOCHER décrit les manifestations musculaires du crétinisme (125).

En 1897, HOFFMANN définit chez un patient thyroïdectomisé, l'assocation clinique qui porte son nom : coexistence d'un myxoedème et d'un syndrome myotonique pur (106).

En 1924, CHANEY signale pour la première fois le ralentissement des réflexes dans l'insuffisance thyroïdienne (45) et en 1933, les travaux de MUSSIO-FOURNIER (155) permettent d'établir les bases physiologiques de l'enregistrement du réflexogramme achilléen.

Entre 1925 et 1934, DEBRE et SEMELAIGNE isolent et décrivent l'entité qui porte leur nom : l'association d'un myxoedème congénital et d'une hypertrophie musculaire généralisée (51, 52).

C'est entre les années 1930 et 1940 que les travaux de différents auteurs français établissent la place des troubles musculaires dans le myxoedème acquis de l'adulte (84, 97, 131, 149).

Le premier ouvrage de langue française à réaliser la synthèse dans le domaine qui nous intéresse a paru en 1965 et comporte 705 références (122).

1.2. MANIFESTATIONS MUSCULAIRES FREQUEMMENT RENCONTREES DANS L'HYPOTHYROIDIE

Si l'atteinte musculaire survenant au cours d'une hypothyroïdie est cliniquement présente dans 30 à 80 % des cas (142, 143, 173), l'intensité des deux affections n'est pas superposable. La myopathie peut aussi précéder l'endocrinopathie de plusieurs mois, quelquefois même de plusieurs années, et de ce fait, faire errer le diagnostic (17, 78, 218).

Comme de surcroît les investigations paracliniques peuvent s'avérer normales durant une période prolongée (17, 78), le risque pour le malade est d'effetuer de nombreuses et diverses pérégrinations médicales avant de bénéficier d'un diagnostic correct, aboutissant à la sanction thérapeutique idoine. C'est pourquoi, il nous a semblé opportun de rappeler les divers aspects cliniques que peut revêtir la myopathie hypothyroïdienne.

La myopathie hypothyroïdienne, limitée aux atteintes musculaires primitives à l'exclusion de toute participation neurogène, peut revêtir plusieurs aspects : présentation habituelle, forme hypertrophique, forme atrophique, forme fruste, formes mixtes, variétés plus rares.

1.2.1. Présentation habituelle

Elle est dominée par la lenteur des mouvements qui manquent de souplesse, la sensation d'enraidissement, les crampes, le retard à la décontraction, le phénomène du myo-oedème à la percussion.

A un degré supérieur on peut aboutir à :

1.2.2. La forme hypertrophique classique du syndrome myo-hypothyroïdien

Classiquement, le tableau associe des signes fonctionnels et des signes objectifs (63, 64, 67, 101, 102, 122, 167).

1.2.2.1. Signes fonctionnels

Le myxoedémateux éprouve une impression désagréable d'enraidissement musculaire. Prédominant le matin, celle-ci cède progressivement lors de la répétition du mouvement (un peu comme le dérouillage matinal dans les arthrites). Il existe une maladresse des doigts et des mains entravant l'exécution des mouvements fins et précis. Le patient souffre par ailleurs de crampes musculaires, quelquefois intenses, pouvant devenir subintrantes. Déclenchées particulièrement par les mouvements rapides ou un effort, elles sont majorées par la fatigue et le froid. Enfin, l'un des signes fonctionnels cardinaux est l'asthénie musculaire dont le pendant objectif est représenté par le signe du tabouret. Cette fatigabilité s'accentue en cours de journée.

1.2.2.2. Signes objectifs

Dans cette forme classique, l'inspection remarque d'emblée l'hypertrophie musculaire, qui, lorsqu'elle est généralisée, confère au patient un aspect pseudo-athlétique caricatural contrastant d'ailleurs avec l'asthénie alléguée.

Habituellement, cette hypertrophie prédomine sur les segments distaux des membres, touchant par ordre décroissant de fréquence et d'intensité les mollets, les bras, les épaules, les avant-bras, les mains, les fessiers, et les masses musculaires lombaires. Les muscles hypertrophiés (car il s'agit d'une réelle hypertrophie et non d'un infiltrat myxoedémateux) paraissent excessivement fermes à la palpation, rigides et empâtés. Le testing musculaire retrouve quelquefois une faiblesse plus notable à la racine des membres, notamment aux quadriceps. Il permet également dans un cas sur

deux, de mettre en évidence le phénomène de pseudo-myotonie. Il convient d'employer le terme de pseudo-myotonie car, contrairement à la myotonie vraie, ce trouble, dans l'hypothyroïdie, ne se manifeste que rarement à l'occasion de mouvements volontaires, sauf dans les variétés très sévères de l'endocrinopathie.

C'est donc essentiellement l'étape de la percussion des masses musculaires qui permettra d'appréhender le trouble. Si l'on se souvient que cette myotonie "mécanique" ne se superpose pas forcément à l'hypertrophie, on concevra la nécessité d'un examen minutieux avec percussion de différents points de la musculature, notamment des mollets, des biceps, de l'éminence thénar et de la langue, localisations privilégiées du trouble. Comme dans la maladie de Steinert, il se forme, après percussion, un bourrelet, qualifié ici de myotonoïde, par analogie avec cette dystrophie musculaire. Des fasciculations peuvent également survenir au point d'excitation.

Remarquons enfin que le réflexe idiomusculaire est obtenu par percussion en dehors du point moteur.

1.2.3. La forme atrophique

Les observations princeps ont été rappotées par NICK en 1943 (158). Dans cette variété nosologique, l'atrophie musculaire touche avec prédilection les muscles de la ceinture pelvienne et de la racine des membres inférieurs. La diminution de la force musculaire est plus importante que ne le voudrait l'atrophie. L'hypotonie musculaire est fréquente.

La palpation, souvent douloureuse, retrouve néanmoins des masses musculaires qui peuvent être dures. La percussion n'engendre pas de réaction pseudo-myotonique. On parle encore de forme pseudo-myopathique.

1.2.4. Les formes frustes et dissociées

Elles se caractérisent par une atteinte musculaire mineure. Les signes prédominants sont tantôt fonctionnels, tantôt objectifs. On décrit des formes hypertrophiques pures et des formes pseudo-myotoniques pures. Ces dernières sont également appelées syndrome de Hoffman dans la littérature française (101, 102, 122, 208)Dans la littérature anglo-saxone, le syndrome dit de Hoffman associe faiblesse musculaire, crampes, rigidité et hypertrophie (123, 143).

1.2.5. Les formes mixtes atropho-hypertrophiques

Elles ont été rapportées par HAGUENAU (97) mais, associant une hypertrophie des mollets à une atrophie thénarienne et hypothénarienne, leur réalité est discutable dans la mesure où l'atteinte des mains est sans doute imputable à une origine neurogène (syndromes canalaires) et non à une atteinte primitive purement myogène.

1.2.6. Le syndrome de DEBRE-SEMELAIGNE

Au cours du myxoedème congénital, il existe habituellement une simple hypotonie musculaire diffuse. Le syndrome de DEBRE-SEMELAIGNE se définit par l'existence d'une hypertrophie musculaire généralisée. Les reliefs musculaires sont majorés. L'hypertrophie est soit diffuse et homogène, soit plus prononcée sur certains groupes musculaires comme les mollets. La consistance des muscles est normale, ferme ou dure. Les phénomènes myotoniques sont discrets ou absents.

Cette atteinte musculaire peut exister quelle que soit l'étiologie de l'insuffisance glandulaire, y compris dans les carences thyréotropes.

Ce syndrome est en fait le parfait équivalent pédiatrique du syndrome myohypothyroïdien acquis de l'adulte (47).

1.3. AUTRES MANIFESTATIONS MUSCULAIRES DE L'HYPOTHYROIDIE

1.3.1. Déficit oculomoteur

Un déficit oculomoteur émaillant l'évolution d'une hypothyroïdie primitive est exceptionnel. Seule une demi-douzaine de cas ont été répertoriés dans la littérature (174).

1.3.2. Myasthénie

Pendant longtemps, l'association d'un myxoedème et d'une myasthénie était considérée comme fortuite. Ce n'est que vers le milieu des années 1960 que plusieurs auteurs ont attiré l'attention sur l'importance de cette association (186, 198).

Le tableau clinique est celui d'une authentique myasthénie. Le myxoedème est le plus souvent l'aboutissement d'une thyroïdite de HASHIMOTO (101). D'autres affections dysimmunitaires peuvent être associées.

1.3.3. Formes rares

Nous ne nous apesantirons pas sur des entités exceptionnelles, parfaitement décrites par M. DUC dans sa thèse (67). Nous mentionnerons pour l'anecdote une observation récente de myopathie hypothyroïdienne simulant une sclérose latérale amyotrphique (154).

1.4. EVOLUTION

Mise à part la myasthénie, les troubles musculaires guérissent généralement sous hormonothérapie substitutive à posologie suffisante. Plusieurs points méritent cependant d'être soulignés.

La forme atrophique est moins bien améliorée, et moins rapidement que ne l'est la forme hypertrophique classique. Le test thérapeutique est un bon élément du syndrome de DEBRE-SEMELAIGNE. En effet, diverses malformations congénitales, rares, peuvent donner le change avec cette affection et ce d'autant plus qu'elles peuvent être associées à une hypothyroïdie.

Le traitement substitutif seul est quelquefois inefficace et l'association à une corticothérapie peut s'avérer nécessaire (78). Même si l'amélioration clinique est satisfaisante, la guérison anatomique est souvent très lente (17). Des cas de rebond à l'arrêt du traitement ont été signalés (218) de même que plusieurs cas de résistance au traitement hormonal (10, 177).

1.5. EXAMENS COMPLEMENTAIRES

1.5.1. Biologie

L'activité créatinine phosphokinase (CPK) sérique est élevée chez presque tous les patients myxoedémateux , même en l'absence de doléance musculaire (62, 92, 184) et semble proportionnelle à la sévérité de l'hypothyroïdie (1). L'isoenzyme MM, d'origine musculaire, rend compte de cette augmentation (62, 88). Ce phénomène pourrait traduite la fuite des enzymes due à une augmentation de la perméabilité membranaire (145) secondaire à une diminution de l'ATP et des composés riches en énergie (62, 215). Sous traitement substitutif, la CPK se corrige rapidement, tandis que la faiblesse musculaire et la TSH mettent plus de temps pour se normaliser (119, 184).

La myoglobinémie est augmentée en fonction de la sévérité de l'atteinte musculaire (184) tandis que l'excrétion de la créatine est habituellement normale (184). Quelquefois cependant, la créatinurie peut être augmentée, en particulier chez l'enfant (1).

1.5.2. Etude électrique

L'électromyogramme (EMG) constitue, en neurologie, le prolongement de l'examen clinique.

Dans les études électrologiques, au cours des syndromes myohypothyroïdiens, les deux altérations les plus courantes sont l'élévation des chronaxies et le ralentissement de la contraction après excitation galvanique (67, 101, 122). L'élévation des chronaxies est en général plus nette dans les muscles présentant des phénomènes de myotonie mécanique. L'EMG quant à lui n'est cependant pas constamment altéré dans les syndromes myohypothyroïdiens, même en présence d'une symptomatologie clinique franche (101, 122).

Dans les syndromes myohypothyroïdiens on classe habituellement les modifications électromyographiques en deux catégories principales :

- les anomalies de caractère myopathique
- les anomalies de caractère myotonique.

1.5.2.1. Les anomalies de caractère myopathique

Elles consistent essentiellement en :

- un bas voltage des potentiels d'unité motrice
- une incidence accrue des potentiels polyphasiques
- un tracé interférentiel en contraction modérée

Ces altérations d'allure myogène contrastent avec l'imposant développement des masses musculaires apparamment hypertrophiées et laissent entrevoir en fait un muscle dégénéré plus en rapport avec la symptomatologie clinique fonctionnelle.

1.5.2.2. Les anomalies de caractère myotonique

Plus rares que les précédentes, elles sont constituées de trains d'ondes prolongées lors des mouvements de l'aiguille, de décharges répétitives après mouvement réflexe provoqué par la percussion du muscle.

En revanche, un aspect myotonique vrai, authentique, n'a été signalé qu'une seule fois dans la littérature d'où le terme de pseudo-myotonie.

1.5.3. Réflexogramme achilléen

L'hypothyroïdie prolonge le temps de relaxation du réflexe achilléen (68, 69, 184, 203, 214). L'origine de la contraction ralentie et de la relaxation freinée pourrait se situer dans l'altération de l'activité ATPase liée à la myosine et la défaillance du recaptage du calcium par le réticulum sarcoplasmique (68, 69, 76, 184, 203).

1.5.4. Anatomie pathologique

Nous traiterons des principales modifications histopathologiques dans le muscle myxoedémateux à l'occasion de la discussion.

2. PRINCIPES DE SPECTROSCOPIE RMN

La dernière décennie a vu l'éclosion de nouvelles technologies possédant des applications dans le domaine médical. La résonance magnétique nucléaire (RMN) en constitue un exemple marquant. Elle possède deux orientations distinctes, appelées à être jumelées dans un proche avenir : la spectroscopie RMN et l'imagerie par résonance magnétique (IRM). C'est la première de ces deux techniques que nous avons utilisé dans notre travail.

Avant de présenter la méthodologie et les résultats de notre étude, il nous a paru souhaitable de situer brièvement la place de la ^{31}P RMN dans le cadre des études métaboliques.

Notre travail étant consacré à une approche physiopathologique du métabolisme musculaire, il nous a semblé inopportun et fastidieux d'imposer au lecteur un chapitre très technique.

Néanmoins, les personnes intéressées pourront trouver en annexe une mise au point, sans prétention, dans laquelle nous avons développé les principes physiques et la validité de la technique de RMN. Nous en avons également profité pour définir quelques points d'une terminologie quelquefois abstruse en essayant d'éviter le recours à un jargon trop spécialisé.

2.1. PRINCIPES DE BASE

La spectroscopie RMN étudie le comportement des noyaux des atomes placés dans un champ magnétique. Le principe élémentaire est que, chaque noyau possédant un nombre impair de neutrons et de protons, et caractérisé par son "spin", va, lorsqu'il est soumis à la fois à un champ magnétique et à une onde électromagnétique, présenter des phénomènes d'échange d'énergie qui donneront naissance à un signal qui peut être mesuré. Ce signal est caractéristique du noyau dans le cadre de son contexte chimique et magnétique.

2.2. DESCRIPTION DES PHENOMENES

Soit un composé renfermant des atomes, dont le noyau est constitué d'un nombre impair de neutrons ou de protons, comme le phosphore 31 dans le cadre de la spectroscopie ^{31}P RMN. Le spin du ^{31}P vaut - 1/2. La rotation des noyaux chargés positivement va créer un champ magnétique. Sous l'action d'un champ magnétique extérieur, ces noyaux vont se comporter comme de petits aimants élémentaires et s'aligner avec le champ extérieur $\vec{Bo}$. Leur moment magnétique va osciller autour de la direction du champ $\vec{Bo}$ avec une fréquence propre ωo. On parle de "précession" pour cette oscillation.

Si nous appliquons à présent au système une onde électromagnétique, cet état d'équilibre va être rompu. En effet, l'onde électromagnétique va transmettre son énergie (transition énergétique) au système magnétique. L'énergie absorbée sera maximale lorsque la fréquence de l'onde émise sera égale à ωo. Lorsque l'émission électromagnétique est interrompue, l'énergie emmagasinée est restituée par un phénomène de relaxation. Cette dissipation d'énergie est à l'origine d'un signal appelé signal de précession libre qui peut être recueilli et analysé.

Du fait de l'intensité réduite de ce signal par ailleurs très bref (quelques dizaines de millisecondes), la sensibilité de cette méthode d'analyse est relativement médiocre. On peut pallier cet inconvénient en utilisant de gros volumes de l'échantillon étudié, ou, plus élégamment, en multipliant les impulsions électromagnétiques brèves, qui donnent lieu à autant de signaux de précession libre que l'on pourra additionner (on parle d'accumulation). Ceux-ci, après un traitement mathématique appelé transformée de Fourier, donnent un spectre (qui représente le signal comme une fonction de la fréquence).

Sur le spectre, chaque signal apparait sous la forme d'une raie dont la surface est proportionnelle au nombre de noyaux qui résonnent. La situation de cette raie sur le spectre est fonction de la fréquence de résonance qui est spécifique pour chaque noyau dans des conditions bien définies.

2.3. INTERET DE LA TECHNIQUE

2.3.1. Introduction

Le signal de précession libre est spécifique de chaque noyau. Or, les noyaux étudiés sont non seulement entourés d'électrons, qui modifient déjà leur comportement vis-à-vis d'un champ magnétique, mais surtout, ils font partie intégrante de molécules fort différentes, elles-mêmes en interaction avec les molécules du milieu. Il en résulte que, pour un même champ magnétique extérieur $\overrightarrow{Bo}$, et pour une même onde électromagnétique appliquée, le comportement du noyau de ^{31}P étudié sera différent suivant la molécule dans laquelle il est intégré. Il en résultera autant de spectres différents, ce qui est fondamental du point de vue analytique. Ainsi, par exemple, le signal du ^{31}P de la phosphocréatine sera bien différent du ^{31}P du glucose-6-phosphate, et l'ATP sera caractérisée par 3 signaux correspondant respectivement aux P en position gamma, alpha et béta de la molécule. Ces différences relatives de résonance des noyaux contenus dans une molécule par rapport à une référence, constituent le déplacement chimique, exprimé en parties par million (ppm), de manière à les rendre indépendants de la valeur du champ magnétique $\overrightarrow{Bo}$.

Notons enfin que, malgré l'intensité des champs magnétiques appliqués, l'absorption d'énergie est très faible. L'inconvénient majeur, nous l'avons vu, est la genèse d'un signal très faible nécessitant des accumulations. En contrepartie, cette transition énergétique modeste présente l'avantage considérable de ne pas perturber chimiquement le système biologique étudié, permettant ainsi des études in vivo. C'est ce que nous allons brièvement évoquer à présent.

2.3.2. RMN du ^{31}P

Nous étudierons les principaux avantages des explorations RMN en nous limitant aux dérivés phosphorés seuls accessibles à la spectroscopie ^{31}P.

2.3.2.1. Les métabolites cellulaires phosphorés

Les groupements phosphates de la cellule ont une importance quantitative et qualitative. Les besoins d'énergie de la cellule sont pourvus par l'ATP, molécule portant deux liaisons à haut potentiel énergétique. La cellule renferme d'autres composés phosphorés impotants : l'ADP, l'AMP, les Pi, la phosphocréatine (PCr), divers oses phosphates, le 2-3 diphosphoglycérate (2-3 DPG)(dans les érythrocytes), des coenzymes (NADP).

En théorie, chacun des métabolites cellulaires phosphaté est identifiable et quantifiable par ^{31}P RMN. En pratique, un nombre limité mais important de ces composés intracellulaires est accessible à la détection par cette spectroscopie.

2.3.2.2. Les réactions chimiques intracellulaires

Les réactions chimiques, autrefois étudiées l'une après l'autre dans un tube à essai, peuvent dorénavant être suivies par RMN au fur et à mesure de leur déroulement. Les spectres haute résolution obtenus sur des composés phosphorés situés à l'intérieur de la cellule permettent donc de voir travailler "en direct" une cellule ou un tissu dans des conditions physiologiques.

2.3.3. Informations obtenues par l'utilisation de la spectroscopie ^{31}P RMN sur un système vivant

2.3.3.1. Information qualitative : identification des métabolites phosphorés

Les nombreux métabolites phosphorés présents dans la cellule peuvent être identifiés simultanément sur la base du déplacement chimique caractéristique et éventuellement de la structure fine de leur signal de résonance.

Dans certaines circonstances, la RMN du ^{31}P a permis de détecter la présence de dérivés ou de métabolites phosphorés qui n'avaient pas été identifiés par les méthodes classiques. Lors d'explorations musculaires, par exemple, certains métabolites inattendus ont été mis en évidence (SEP), telle la glycérophosphorylcholine (GPC) et la L-sérine éthanolamine phosphodiester (SEP) dans des muscles de lapins, de batraciens et de poulets dystrophiques (33, 34, 38, 178). L'importance de ces métabolites est également étudiée en pathologie humaine (20, 172).

2.3.3.2. *Information quantitative*

La mesure de l'aire, ou de la hauteur en cas de pics symétriques, des différents signaux, permet de déterminer les concentrations de divers métabolites.

En effectuant les corrections adéquates exigées par des temps de relaxation éventuellement différents, la mesure des concentrations relatives de plusieurs métabolites au sein d'une même unité métabolique (cellule, tissu, humeur) est obtenue très rapidement. Si l'on dispose d'une méthode de calibration appropriée, les concentrations absolues peuvent être déterminées. La difficulté réside dans l'estimation du "volume sensible" exploré.

A ce stade de l'exposé, une remarque s'impose : les concentrations en métabolites phosphorés mesurées sur un même système par RMN^{31}P et par les méthodes "traditionnelles" ne concordent pas toujours.

Deux raisons au moins peuvent expliquer ces différences :

- d'une part, la RMN ne détecte pas in vivo la totalité du pool d'un métabolite, mais uniquement sa fraction mobile (par exemple l'ADP liée aux protéines des myofilaments ne donne pas de signal RMN)

- d'autre part les techniques d'extraction qui permettent le dosage d'un métabolite non seulement conduisent au dosage de ce métabolite dans sa totalité, (en dépit de l'existence d'une compartimentation cellulaire), mais aussi peuvent entraîner une dégradation sélective de certains composés, la phosphocréatine (PCr) par exemple.

Ainsi, l'estimation du potentiel de phosphorylation oxydative d'un tissu intact basée sur des données obtenues après congélation et extraction est certainement très inférieure à la valeur réélle (20).

2.3.3.3. *Mesure du pH intracellulaire*

La RMN du ^{31}P permet la détermination directe et non destructive du pH intracellulaire ainsi que l'ont montré RADDA et coll. (172). D'autres atomes (^{1}H par exemple) peuvent être utilisés également dans ce but (82, 165).

2.3.3.4. *Compartimentation intracellulaire*

Les méthodes "traditionnelles" de détermination des composés intracellulaires font généralement appel à une homogénéisation initiale du tissu et donc à la destruction de la compartimentation intracellulaire. Les signaux RMN sont sensibles à l'environnement et, en principe, la présence d'un même composé dans deux ou plusieurs environnements (correspondant à deux ou plusieurs compartiments) est susceptible d'être détectée.

Ainsi, dans le domaine musculaire, l'existence d'un signal Pi beaucoup plus large que celui de la phosphocréatine est particulièrement bien documenté (20). Cette différence est très marquée au cours de la dégradatation métabolique du muscle anoxique ce qui suggère la localisation du Pi dans plusieurs environnements de pH à l'intérieur de la cellule. La perturbation du pH intracellulaire du muscle par l'acétate entraîne l'apparition de deux signaux différents pour l'orthophosphate et les oses phosphates (20) suggérant une compartimentation de ces métabolites entre le sarcoplasme et le réticulum sarcoplasmique.

Par ailleurs, cette compartimentation est également sensible lorsqu'on étudie un composé en partie fortement lié à un système membranaire ou contractile, qui n'apparaitra pas à la RMN, mais qui sera dosé dans sa totalité par les méthodes chimiques.

2.3.3.5. *Enzymologie in vivo*

L'étude de la variation des niveaux de métabolites phosphorés en fonction du temps dans des conditions qui n'altèrent pas le fonctionnement de la cellule est un des apports essentiels de la RMN du ^{31}P.

Des "instantanés métaboliques" sont aisément pris à intervalles réguliers et permettent de suivre des flux de métabolites, soit dans des conditions normales, soit dans des conditions physiologiques ou pathologiques diverses. Ces mesures successives ont ouvert la voie au domaine nouveau et remarquable de l'enzymologie in vivo et à l'étude des cinétiques enzymatiques in vivo.

2.4. SPECTRE TYPE OBTENU PAR L'ETUDE RMN DU ^{31}P DU MUSCLE STRIE SQUELETTIQUE

2.4.1. Introduction

Nous exposerons dans un premier temps l'aspect du spectre du ^{31}P du muscle strié squelettique au repos. Secondairement, nous étudierons le devenir de ce spectre à l'exercice et détaillerons les principaux paramètres spectroscopiques permettant d'évaluer les échanges énergétiques.

2.4.2. Spectre du ^{31}P du muscle strié au repos

2.4.2.1. *Rappels*

Seul un nombre restreint et à présent bien connu de métabolites phosphorés est présent en concentration suffisante dans le muscle strié pour donner naissance à un signal par spectroscopie RMN du ^{31}P. Le recueil du signal se fait par une bobine en regard de laquelle est placé le muscle étudié.

Selon TAYLOR (204), les prélèvements récents de peau et de graisse n'engendrent pas de signal avec cette technique, et les signaux en rapport avec le 2-3 DPG (2-3 diphosphoglycérate) sanguin sont négligeables dans la contribution au spectre du ^{31}P du muscle.

Par ailleurs, le signal lié à l'énorme quantité de phosphates liée à l'os peut aisément être éliminé après déconvolution du fait de la largeur même de la raie en rapport avec un élément immobile.

2.4.2.2. *Le spectre*

Comme nous l'avons déjà noté, seules quelques molécules phosphorylées d'importance primordiale existent dans la fibre musculaire : notamment la PCr, les Pi, l'ATP, l'ADP, l'AMP, des phosphomonoesters, des phosphodiesters, et des oses phosphates.

Lors de l'étude en RMN, ces composés pourront générer chacun un ou plusieurs pics (dont le nombre est fonction du nombre d'atomes de phosphore présents dans la molécule), spécifiques, qui ensemble, vont constituer le spectre de repos du muscle strié.

Ces pics correspondent à la résonance du Pi, de la PCr, des phosphates gamma, alpha et béta de l'ATP (figure 1).

le pic béta de l'ATP est le pic qui permet de quantifier les concentrations d'ATP, compte tenu de la superposition aux pics alpha et gamma des pics de résonance de l'ADP.

Quelquefois, il est possible d'observer des pics supplémentaires : pic de phosphodiesters (PDE) : glycérol 3 phosphorylcholine, sérine éthanolamine phosphodiester, oses phosphates (fructose 1-6 diphosphate, glucose 6 phosphate)

Chacun de ces pics a une position bien précise dans le spectre, fonction du déplacement chimique (tableau n° 1)

$$pH = 6.75 + \log_{10}\left[\frac{(\delta - 3.35)}{(5.60 - \delta)}\right]$$

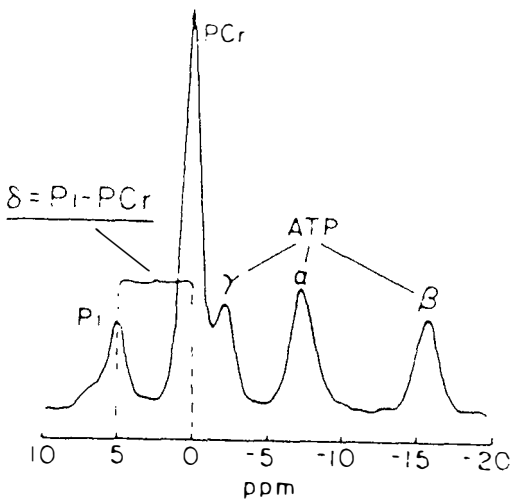


Figure 1
Spectre du muscle strié squelettique au repos

METABOLITES	DEPLACEMENTS CHIMIQUES (ppm)
Fructose 6-P	7,5
Pi	variable selon le pH (3,31 --› 5,65)
PCr	0 (référence)
ATPγ - ADPβ	- 2,5
ATPα - ADPα	- 7,6
ATPβ	- 15,9

Tableau n° 1

Déplacements chimiques des métabolites phosphorés musculaires d'après EDWARDS (70)

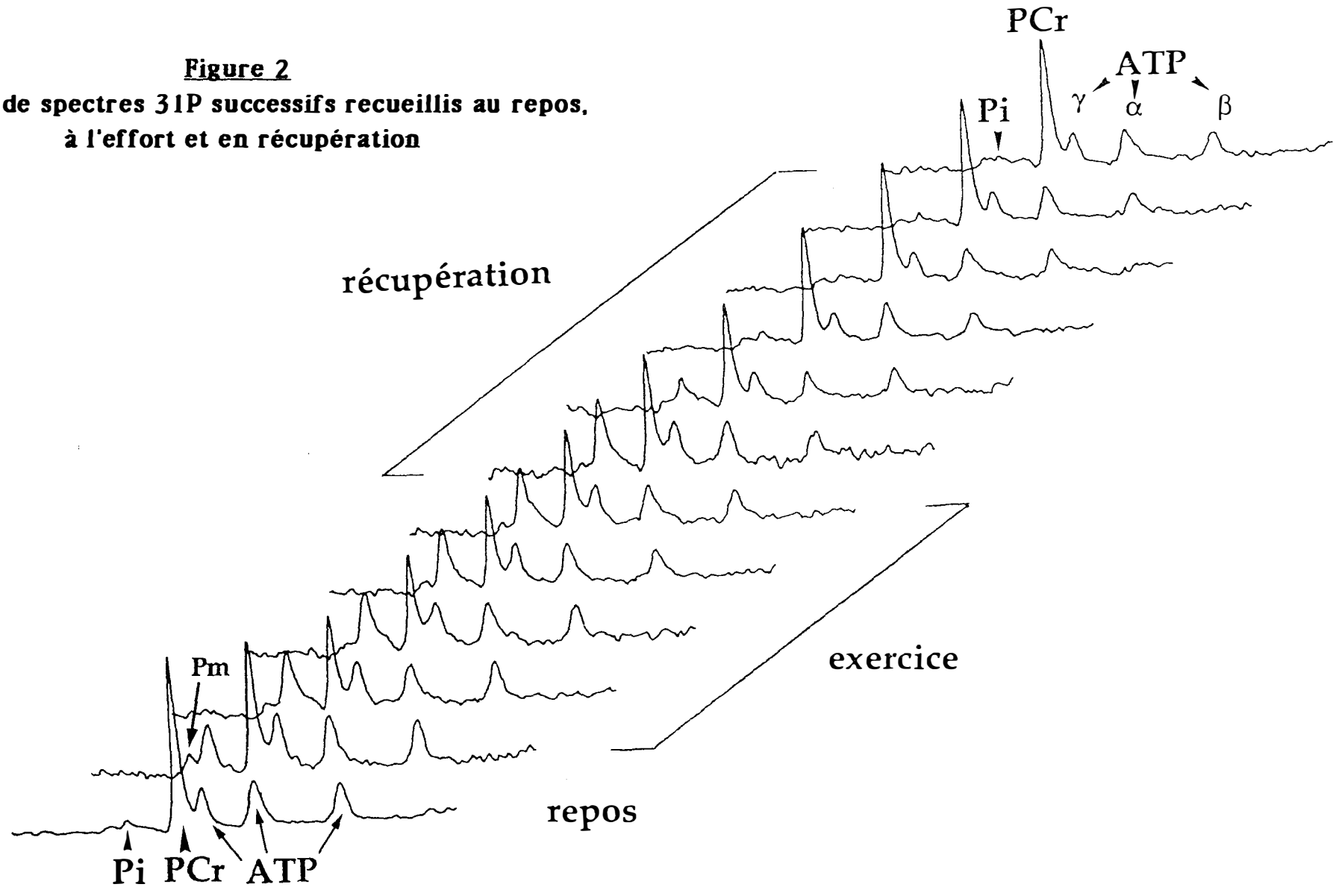
2.4.3. Modification du spectre à l'exercice

Au cours de l'exercice musculaire, il existe une déplétion de la PCr et une accumulation de Pi. Cette modification traduit la consommation d'énergie immédiatement disponible sous forme de PCr (figure 2).

Les modifications des autres pics ne sont pas toujours exploitables soit parce qu'elles sont minimes, voire nulles, soit parce que les pics ne sont plus visibles. Ainsi, par exemple, du fait du déplacement du pic de Pi, il peut y avoir un chevauchement voire un petit pic de PDE.

Figure 2

Exemple de spectres 31P successifs recueillis au repos, à l'effort et en récupération



2.5. PARAMETRES ETUDIES

Les paramètres variables qui intéressent le physiologiste, sont essentiellement les valeurs :

- des pics du Pi
  de la PCr
- des éventuels PDE qui pourraient apparaître
- du déplacement chimique du Pi.

Les contenus en Pi et en PCr peuvent être estimés :

• soit à partir de la surface de leur pic (117, 137, 138, 139, 172, 204), lui-même établi directement par le programme informatique couplé au récepteur ou par calcul à partir des spectres en utilisant une méthode de calcul de triangulation.

• soit à partir de la seule hauteur des pics (s'ils sont symétriques) (117, 213, 219).

Ces deux méthodes donnent des résultats superposables (117)

• soit à l'aide d'un programme informatique d'intégration des pics (par exemple le programme integnew)

Les valeurs de Pi et de PCr peuvent être exprimées en unités normalisées (U.N.) en utilisant les rapports :

Pi / (PCr + Pi)
et
PCr / (PCr + Pi)

ce qui permet de réduire les incertitudes de mesure.

Connaissant le contenu en ATP des cellules, concentration qui est généralement constante pour une activité physique en deçà d'un niveau liminaire, il

est possible de déterminer les concentrations des autres métabolites phosphorés par comparaison de l'aire de leur signal à l'aire du signal de l'ATP.

Le pH intracellulaire est déterminé à l'aide du déplacement chimique des Pi en utilisant la formule de RADDA (188)

2.6. LIMITES DE LA TECHNIQUE RMN

2.6.1. Aspect économique

En 1989, le coût de revient d'un examen en spectroscopie RMN était d'environ 1500 F. Ce coût tient compte de l'entretien et de l'amortissement du matériel, mais suffit à expliquer qu'une méthode aussi onéreuse ne puisse être utilisée en routine. L'acquisition du matériel RMN et son entretien incombent entièrement au service de Médecine Nucléaire, ce qui représente une lourde charge financière.

2.6.2. Problèmes liés à l'utilisation d'un champ magnétique intense

2.6.2.1. Dans l'enceinte du spectroscope RMN

Avant de pénétrer dans l'enceinte où est situé l'aimant, il convient de se délester de tout objet pouvant être attiré (et alors se comporter comme un projectile) ou détérioré par le champ magnétique (cartes de crédit, mémoires informatiques, bandes magnétiques).

Le risque peut être vital si l'élément pouvant être attiré est situé à l'intérieur d'un organisme (pace-maker, clips métalliques, prothèses, projectiles).

Ainsi, un tel risque est une contre-indication absolue et formelle à la réalisation de ce type d'examen.

2.6.2.2. *Aux alentours du spectroscope RMN*

Le champ magnétique n'est pas limité à l'enceinte de l'appareil, mais ses valeurs résiduelles à quelques mètres de l'aimant sont susceptibles de géner le fonctionnement d'appareils électroniques, d'appareils à mémoire magnétique, voire de stimulateurs cardiaques.

2.6.2.3. *Altérations cellulaires*

A notre connaissance, il n'a été signalé aucune altération viscérale ou génétique chez des patients ou le personnel exposé. Des recommandations de la Food and Drug Administration suggèrent néanmoins de ne pas utiliser cette technique chez la femme enceinte, cette méthode n'ayant pas fait la preuve de son absence de risque tératogène.

2.6.3. Reproductibilité de la technique

Il semblerait que la spectroscopie RMN du ^{31}P soit une technique hautement reproductible, comme l'ont montré les travaux de TAYLOR lors d'exercices réalisés à plusieurs jours d'intervalle (204).

2.6.4. Localisation en profondeur

Une des principales difficultés actuelles de la spectroscopie RMN est la localisation en profondeur d'un tissu, d'un muscle. La nécessité de plusieurs centimètres cubes de volume musculaire rend l'examen délicat pour l'étude de certains muscles, voire impraticable ou très minutieux en ce qui concerne le diaphragme.

2.6.5. Résolution temporelle

Pour avoir un signal interprétable sur le spectre, il faut envoyer plusieurs fois une onde radiofréquence et réaliser la sommation des signaux de précession libre (SPL) correspondants. A l'arrêt d'une impulsion radiofréquence, le moment magnétique du noyau de ^{31}P met une trentaine de secondes pour revenir à son état d'équilibre.

Pour raccourcir le temps d'acquisition d'un spectre, il suffit d'émettre les impulsions radiofréquence avant que le moment magnétique ne regagne son état d'équilibre, et de corriger les valeurs de la PCr mesurées sur le spectre par le facteur de correction ou de relaxation ou facteur de saturation. Celui-ci est calculé en comparant les hauteurs des pics de PCr sur deux spectres, l'un obtenu en attendant le retour à l'état d'équilibre du moment magnétique du noyau ^{31}P avant d'envoyer l'impulsion de radiofréquence suivante et l'autre, obtenu sans attendre le retour à l'état d'équilibre.

Le facteur de saturation dépend du champ magnétique, de la fréquence des impulsions radio, du tissu, et de l'espèce étudiés.

2.6.6. Résolution spatiale

La bobine radiofréquence, placée à la surface d'un tissu, permet d'enregistrer les signaux correspondant aux métabolites contenus dans la partie du tissu adjacent dont le volume exploré est imprécis, mais constant pour un même tissu étudié. Il est donc difficile, quelquefois, d'étudier un muscle, en particulier, surtout si son volume est faible.

2.6.7. Mouvements entre la bobine et le muscle

Les mouvements entre la bobine et le muscle étudié sont responsables d'une dégradation de la qualité des spectres, donc d'incertitudes de mesure des paramètres recueillis.

3. MATERIELS ET METHODES

3.1. INTRODUCTION

La spectroscopie du ^{31}P RMN permet l'étude in vivo du métabolisme énergétique du muscle strié. Préservant l'intégrité du tissu, cet examen peut être répété tant au repos que durant l'activité ou la récupération.

Le muscle squelettique est un point d'impact classique des hormones thyroïdiennes. Cependant, la relation entre l'ancienneté de l'hypothyroïdie et la sévérité de la myopathie est encore mal connue. C'est pourquoi, il nous a paru intéressant d'appliquer la spectroscopie ^{31}P RMN à des groupes de rats présentant une insuffisance thyroïdienne induite de profondeur croissante, et de comparer les résultats à ceux obtenus dans un groupe témoin. Ceci devrait permettre d'établir le profil spectroscopique de la myopathie hypothyroïdienne jusque là peu étudiée, et de confirmer la précocité de l'atteinte.

3.2. ANIMAUX

Notre étude a porté sur 48 rats mâles de race Wistar âgés, au début de l'expérimentation, de 8 semaines (IFFA CREDO, DOMAINE DES ONCINS). Le poids moyen des rats au début de l'expérimentation est de 262 ± 16 g. Nous avons utilisé des rats de même sexe car il a été décrit des modifications légérement différentes en fonction du sexe en cas d'hypothyroïdie (214).

3.3. SPECTROMETRE

L'ensemble des expérimentations a été mené dans le Laboratoire de Biophysique de la Faculté de Médecine (Professeur ROBERT) (Rue Lionnois - CHRU de NANCY).

L'appareillage RMN et toute l'infrastructure informatique ont été représentés sur la figure 3.

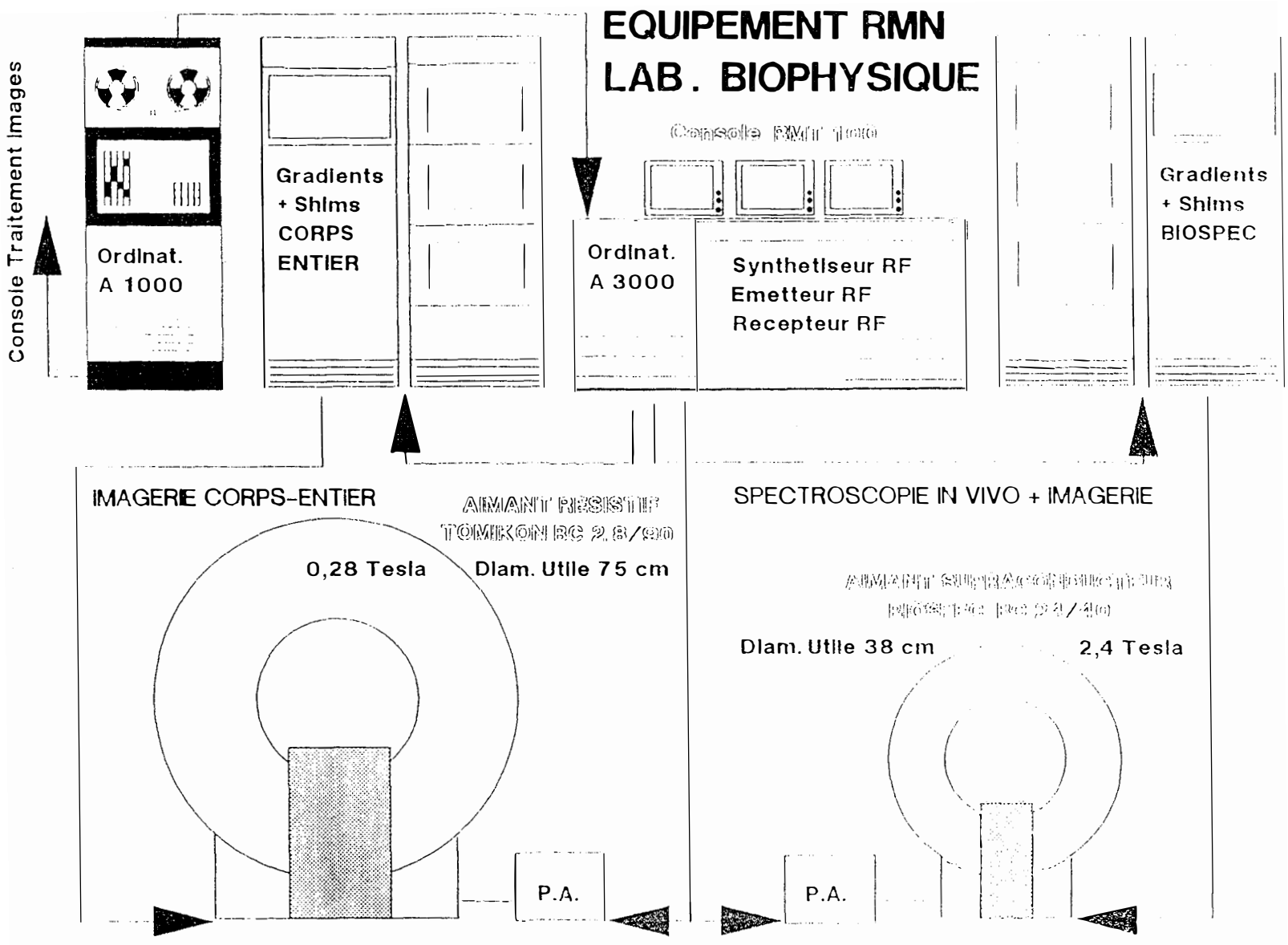

EQUIPEMENT RMN
LAB. BIOPHYSIQUE
Console Traitement Images
Ordinat.
A 1000
Gradients
+ Shims
CORPS
ENTIER
Console RMN Tomo
Ordinat.
A 3000
Synthetiseur RF
Emetteur RF
Recepteur RF
Gradients
+ Shims
BIOSPEC
IMAGERIE CORPS-ENTIER
AIMANT RESISTIF
TOMIKON BC 2,8/80
0,28 Tesla
Diam. Utile 75 cm
P.A.
SPECTROSCOPIE IN VIVO + IMAGERIE
AIMANT SUPRACONDUCTEUR
BRUKER BC 2,4/40
Diam. Utile 38 cm
2,4 Tesla
P.A.

FIGURE 3

L'étude a utilisé un spectromètre Brüker BNT 100 interfacé, muni d'un aimant supraconducteur horizontal de 2,35 teslas, dont le diamètre interne est de 40 cm. Des bobines de surface de 5 cm de diamètre ont permis d'améliorer la qualité des spectres. Les fréquences de résonance du ^{31}P et du ^{1}H étaient respectivement de 40,65 et de 100,125 mégahertz.

3.4. SUBSTANCES PHARMACEUTIQUES

Les rats ont été rendus hypothyroïdiens à l'aide de Propylthiouracile (P.T.U.), additionné à l'eau de boisson à raison de 500 mg/l, délivré par la Pharmacie Centrale des Hôpitaux de Paris, et ont été anesthésiés avec du phénobarbital (phénobarbital sodique sous forme de lyophilisat) (Laboratoires SPECIA - PARIS).

3.5. DOSAGES BIOLOGIQUES

Les dosages des hormones thyroïdiennes (thyroxine libre et triodothyronine libre, respectivement FT4 et FT3) ont été réalisés par méthode radio-immunologique de type compétition (Amersham International Londres).

3.6. METHODES

3.6.1. Animaux

Les rats ont été répartis en 4 groupes de 12 après tirage au sort. Les groupes ont été définis comme suit :

- un groupe T constitué de 12 rats témoins non traités

• 3 groupes HYP définis par la durée d'adminsitration d'un antithyroïdien de synthèse : le PTU :

- **groupe HYP 2** : administration de PTU pendant les 2 semaines qui précèdent le sacrifice des animaux

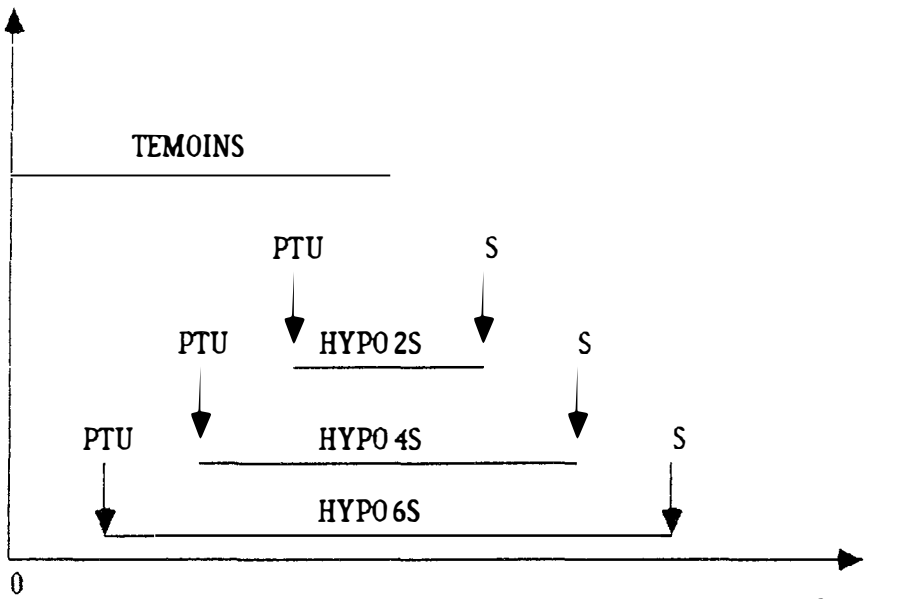
- **groupe HYP 4** : administration de PTU pendant les 4 semaines qui précèdent le sacrifice des animaux

- **groupe HYP 6** : administration de PTU pendant les 6 semaines qui précèdent le sacrifice des animaux.

Une période d'acclimatation de quatre semaines a été respectée . Le propylthiouracile était administré dans l'eau de boisson à raison de 500 mg de PTU base en poudre dissoute par litre d'eau, suivant le protocole préconisé par Bergseth et al.. (18).

Le schéma du protocole d'administration de PTU est représenté sur la figure 4. Il a été calculé de façon à obtenir des rats d'âge similaire lors de l'expérimentation RMN (16,5 ± 1 semaine). En effet, il a été décrit des changements de type de fibre musculaire avec l'âge, ce qui rend cette précaution nécessaire (128).

Les animaux étaient répartis à raison de 3 par cage, nourris sans carence et changés quotidiennement. La boisson était administrée à volonté. Les cages étaient placées au calme, dans une ambiance thermique constante (27°) avec une alternance d'ambiance diurne et nocturne de 12 heures.



PTU - propylthiouracile S - sacrifice

Figure 4
Protocole d'administration du PTU aux rats

Les animaux ont été pesés dès réception, tirés au sort, marqués, puis répartis dans leurs cages respectives.

3.6.2. Préparation à la spectroscopie

3.6.2.1. *Anesthésie et pesée*

Le jour de la procédure expérimentale, chaque muridé était anesthésié à l'aide de phénobarbital par voie intrapéritonéale à la posologie de 40 mg/kg. L'anesthésie générale, obtenue en quelques minutes, se prolongeait jusqu'au sacrifice final, sauf en de rares exceptions, où une dose complémentaire du barbiturique était nécessaire jusqu'à obtention d'une anesthésie de qualité chirurgicale (à raison de 20 mg/kg supplémentaires). L'administration du sédatif était réalisée à chaque fois que le rat précédent arrivait à la fin de l'excitation dans le spectromètre. Afin de déterminer la courbe de croissance, chaque rat était alors pesé à l'aide d'une balance de Roberval.

3.6.2.2. *Installation des rats*

Chaque rongeur anesthésié était attaché en décubitus ventral sur une planchette de dissection. L'arrière train droit était fixé de façon à ce que chaque articulation (hanche, genou, cheville) soit fléchie à angle droit. Une fenêtre découpée dans la planchette à ce niveau permettait l'acquisition des spectres dans des conditions plus favorables. Un trait de bistouri légérement oblique en bas et en dehors, tiré à partir de l'épine iliaque postéro-supérieure permettait, après dissection des fascias, d'aborder le plan musculaire. Entre les deux chefs fessiers, réclinés de façon atraumatique, le nerf sciatique était isolé de manière exsangue après avoir été libéré de ses adhérences. Il était alors placé dans une électrode de stimulation.

3.6.2.3. *Stimulation*

Une électrode de stimulation, métallique, isolée, mise en place sur le nerf sciatique, permettait l'administration, durant la seule phase d'excitation, d'une

impulsion électrique rectangulaire de 1 ms, 15 volts, à la fréquence de 2 hertz. Les caractéristiques de ce courant correspondent pour le nerf à une stimulation supramaximale. Celle-ci induit la contraction de l'ensemble des groupes musculaires situés sous l'articulation fémoro-tibiale (soléus, gastrocnémien, plantaris). Une seule fréquence de stimulation a été utilisée (2 Hz), afin de réduire la durée des investigations. Elle a été choisie de manière à éviter toute tétanie musculaire. La patte de l'animal étant immobilisée, l'effort réalisé contre résistance est du type isométrique. Il est relativement standardisé, compte tenu du positionnement rigoureusement identique de tous les rats, grâce à l'utilisation de repères précis.

La phase d'excitation, de 10 minutes, était encadrée d'une période de repos et d'une phase de récupération de même durée, dépourvues de toute activité de stimulation du système neuro-musculaire.

3.6.2.4. *Obtention des spectres*

Les rats, placés en position de décubitus ventral sur un guide introduit horizontalement dans l'aimant supraconducteur étaient positionnés au centre du champ magnétique afin d'obtenir des spectres de haute définition.

Avant chaque étude spectroscopique, l'homogénéité du champ magnétique était optimisée en observant le signal proton.

Pour recueillir les spectres en ^{31}P, étaient appliquées des impulsions radiofréquence sous un angle de 70° et d'une durée de 100 microsecondes. Le temps de répétition était de 2 secondes. Afin d'obtenir une bonne définition, nous procédions à l'acquisition cumulée de 20 signaux de précession libre par minute.

Ainsi, au repos (10 minutes), le spectre recueilli correspond à l'acquisition cumulée de 200 signaux de précession libre ; durant l'excitation, chaque spectre correspondant à 2 minutes de stimulation, est le fruit de l'accumulation de 40 signaux. Les 2 premières minutes de récupération correspondent à 20 accumulations contre 40 accumulations pour les 4 spectres suivants obtenus pendant les 8 dernières minutes de récupération.

Temps de l'étude	Nombre de SPL accumulés	Temps de l'étude	Nombre de SPL accumulés
REPOS	200	Récup. 1	20
EXC 1-2	40	Récup. 2	20
EXC 3-4	40	Récup. 3-4	40
EXC 5-6	40	Récup. 5-6	40
EXC 7-8	40	Récup. 7-8	40
EXC 9-10	40	Récup. 9-10	40

Tableau n° 2

Nombre de signaux de précession libre cumulés pour l'acquisition des spectres aux différents temps de l'expérimentation

La procédure décrite nous permet donc le recueil de :

- un spectre de repos de très haute définition
- 5 spectres d'excitation de bonne définition
- 2 spectres de récupération initiaux de définition un peu moins bonne, mais apportant des renseignements intéressants concernant la phase précoce de récupération
- 4 spectres de récupération de bonne définition.

Pour chaque spectre, nous nous intéressons aux pics suivants :

- pic de la phosphocréatine (PCr)
- pic des phosphates inorganiques (Pi)
- pic des phosphomonoesters (Pm)
- pic des phosphodiesters (PDE)
- pic de l'ATP ß (ATP)

Ceci nous permet d'étudier les paramètres suivants :

- le pH à partir du déplacement chimique des Pi

et les rapports :

- PCr/ Pi
- PCr/ (PCr + Pi)
- PCr/ ATP
- PDE/ ATP
- Pi/ ATP
- Pm/ ATP

3.6.2.5. *Sacrifice de l'animal*

Après avoir retiré chaque rat du spectromètre et vérifié la profondeur de l'anesthésie, l'animal est positionné en décubitus dorsal. Une laparotomie médiane transversale et longitudinale en T inversé permet, après réclinaison des viscères splanchniques et dissection du rétropéritoine, d'aborder l'aorte. Une ponction de 2 millimètres en amont de la bifurcation aortique permet de recueillir sur tube hépariné entre 7 et 10 ml de sang, entrainant le décès de l'animal par exsanguination.

3.6.2.6. *Dosages plasmatiques*

Le sang recueilli est destiné à plusieurs analyses :

- dosage de la FT4
- dosage de la FT3

par méthode radio-immunologique, afin de confirmer l'hypothyroïdie chez les animaux intoxiqués et de vérifier l'absence de dysthyroïdie dans la population témoin.

3.6.2.7. *Analyse des résultats*

Pour chaque spectre :

• la ligne de base est tracée par régression linéaire entre les niveaux moyens du bruit de fond à gauche du pic Pm et à droite du pic d'ATB ß.

• nous nous intéressons aux pics suivants :
- pic de phosphocréatine (PCr) qui sert de référence
- pic des phosphates inorganiques (Pi)
- pic des phosphomonoesters (Pm)
- pic des phosphodiesters (PDE)
- pic béta de l'ATP (ATP ß)

Nous avons reproduit ci après un spectre démonstratif. Vous reconnaîtrez de gauche à droite les pics suivants : Pm, Pi, PDE, PCr, ATP gamma, ATP alpha, ATP ß (figure 5).

• nous avons quantifié l'importance des pics par le calcul de leur aire à l'aide d'un programme d'intégration automatisé par rapport à la ligne de base (programme Integnew Brüker).

• nous avons retenu plus particulièrement les paramètres suivants :
- les rapports PCr/Pi, PCr/(PCr + Pi), PCr/ATP, Pi/ATP, PDE/ATP, et Pm/ATP
- le pH intracellulaire que nous avons déterminé directement à partir du déplacement chimique du pic Pi d'après la formule de RADDA

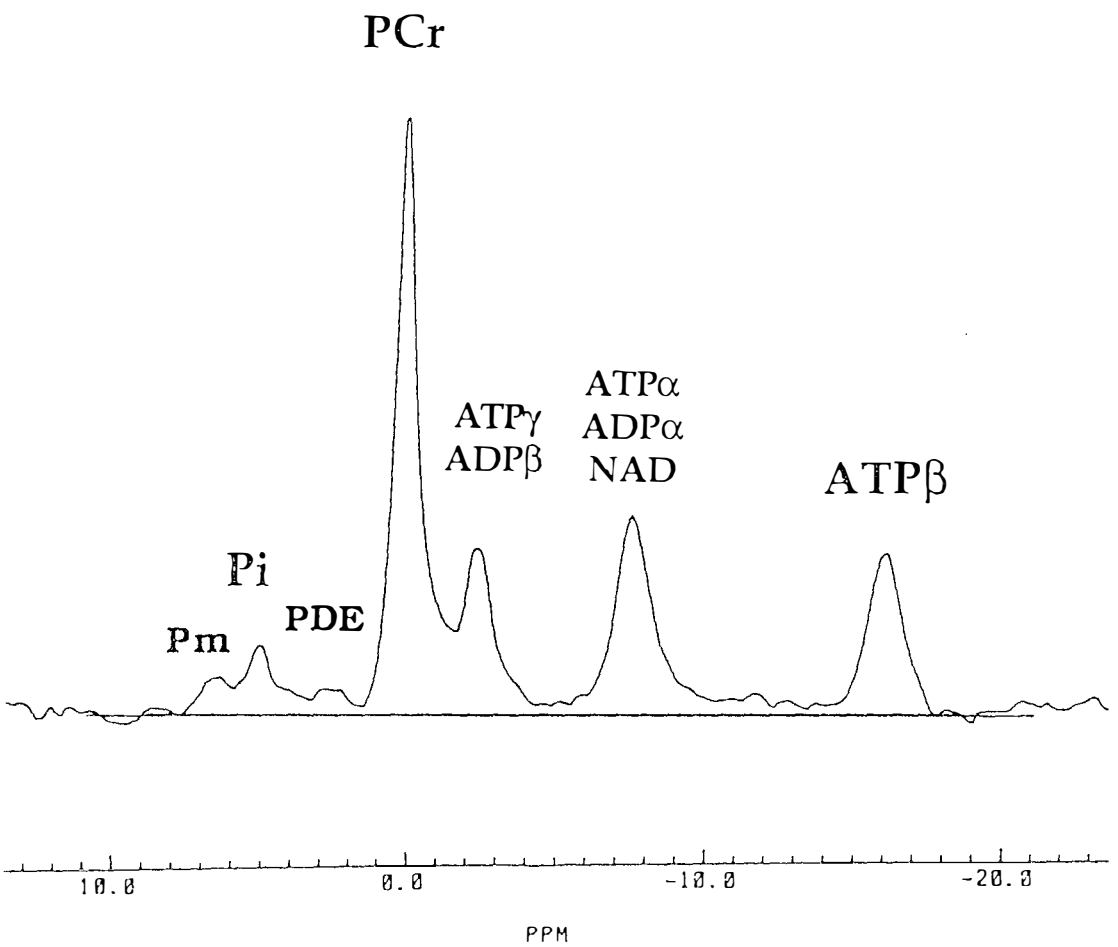


Figure 5

Spectre démonstratif

3.6.2.8. *Analyses statistiques*

Pour chaque variable étudiée, l'analyse statistique a porté sur une comparaison de moyennes, en supposant une répartition gaussienne des échantillons.

- pour la comparaison de deux groupes, nous avons eu recours au test t de Student-Fischer pour séries non appariées, en supposant une égalité des variances de chaque échantillon

- pour la comparaison globale des quatre groupes, le choix a porté sur une analyse de variance à un facteur (en l'occurence la durée de l'hypothyroïdie)

- pour l'étude de l'évolution d'un paramètre en fonction du temps (périodes d'excitation ou de récupération post-stimulative), un modèle d'analyse de variance à deux facteurs (durée de l'hypothyroïdie et temps) avec interaction a été utilisé.

Un risque alpha de 0,05 a été choisi comme seuil de significativité. Tous les résultats sont présentés sous la forme : valeur moyenne du groupe plus ou moins un écart type (86, 189).

3.7. JUSTIFICATION DU PROTOCOLE

3.7.1. Choix de la stimulation

Nous avons, dans cette étude, opté pour une stimulation non tétanique, autorisant une approche du fonctionnement aérobie des muscles. Ceci nous permet d'appréhender les métabolismes oxydatifs mitochondriaux. La déplétion de la phosphocréatine est suffisante pour l'étude de son métabolisme (25).

3.7.2. Durée du protocole

La durée limitée dans le temps de l'expérimentation (une demi-heure) permet de réduire les effets de l'hypothermie, secondaire à l'affection endocrinienne et à l'anesthésie, à un minimum. Ceci est d'autant plus vrai que nous avons procédé à un réchauffement de l'ambiance thermique des animaux avant le début de chaque expérience. Les effets de l'hypoxie sont également limités comme l'ont montré les résultats d'une étude récente (25).

4. RESULTATS

Nous envisagerons successivement les effets cliniques et les résultats biologiques et spectroscopiques.

4.1. EFFETS CLINIQUES

A l'instar d'autres études, nous constatons un ralentissement de la courbe de croissance chez les rats hypothyroïdiens (109, 162). L'ensemble des poids des différents muridés est répertorié dans le tableau 3.

Par ailleurs, plusieurs signes cliniques sont évocateurs d'hypothyroïdie chez les rats traités par PTU :

- une certaine apathie (pour ne pas dire une apathie certaine dans le groupe intoxiqué six semaines durant)
- un ralentissement dans la gestuelle
- une discrète dépilation (qui se confirme sur les rats anesthésiés).

4.2. RESULTATS BIOLOGIQUES

Les dosages de FT3 et FT4 confirment l'hypothyroïdie chez tous les rats traités au PTU (tableau 3).

En revanche, les rats témoins sont euthyroïdiens, ce qui est satisfaisant lorsque l'on sait que 15 % des rats de race Wistar développent une tumeur hypophysaire, selon l'éleveur (Iffa Credo), à un âge plus avancé cependant.

GROUPE	FT3 pmoles/l	FT4 pmoles/l	POIDS grammes	AGE semaines
TEMOIN	1,14 ± 0,37	14,13 ± 4,25	469,3 ± 28,5	15
HYPO 2S	0,407 ± 0,035	1,53 ± 0,16	411,3 ± 38,2	16
HYPO 4S	0,511 ± 0,060	1,67 ± 0,16	400,6 ± 21,0	17
HYPO 6S	0,541 ± 0,053	1,67 ± 0,15	371,2 ± 16,2	18

TABLEAU 3 : valeurs de la fraction libre de T3, de la fraction libre de T4, du poids et de l'âge des differents groupes de rats (valeur moyenne ± 1 écart-type)

4.3. RESULTATS SPECTROSCOPIQUES

Nous décrirons successivement les résultats obtenus au repos, lors de l'excitation, et enfin pendant la récupération. Notons toutefois, dès à présent, qu'il n'est constaté à aucun moment de pic anormal.

4.3.1. Résultats spectroscopiques du muscle au repos

Les principaux résultats sont colligés dans les tableaux annexes 1 à 4 et sur les figures 6 à 12.

Le pH de repos est en moyenne de 7,145 ± 0,041 dans le groupe témoin. Il est significativement plus alcalin que dans les trois autres groupes ($p < 0,001$). Il n'existe pas de différence significative concernant le pH entre les 3 groupes de rats hypothyroïdiens

Les rapports PCr/Pi et PCr/(Pcr + Pi) se comportent d'une façon sensiblement équivalente dans les 3 groupes de rats intoxiqués. Ils sont significativement abaissés par rapport au groupe témoin ($p < 0,025$).

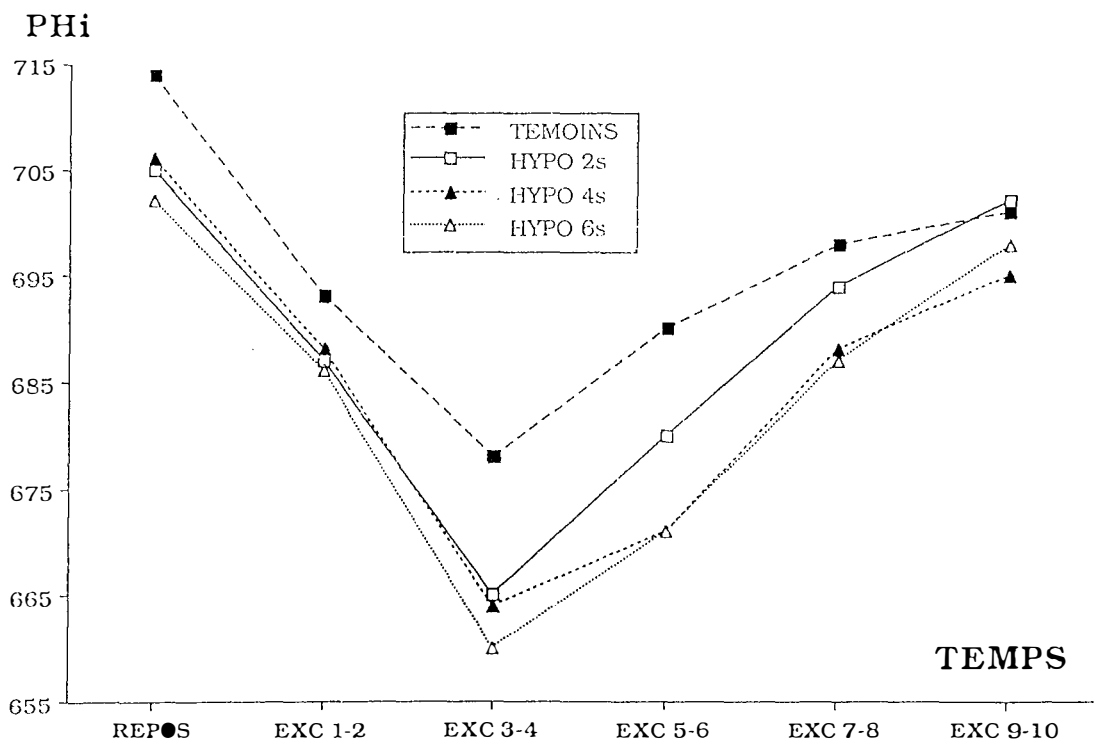
Le rapport PCr/ATP est significativement plus élevé chez les rats du groupe Hypo 4S ($p < 0,025$).

Le rapport PDE/ATP, sensiblement identique chez les rats témoins et les rats les plus récemment traités, double après 4 semaines d'intoxication et triple presque dans le groupe HYPO 6S ($p < 0,001$).

Le rapport Pi/ATP est augmenté d'environ 40 % chez les rats hypothyroïdiens ($p < 0,025$).

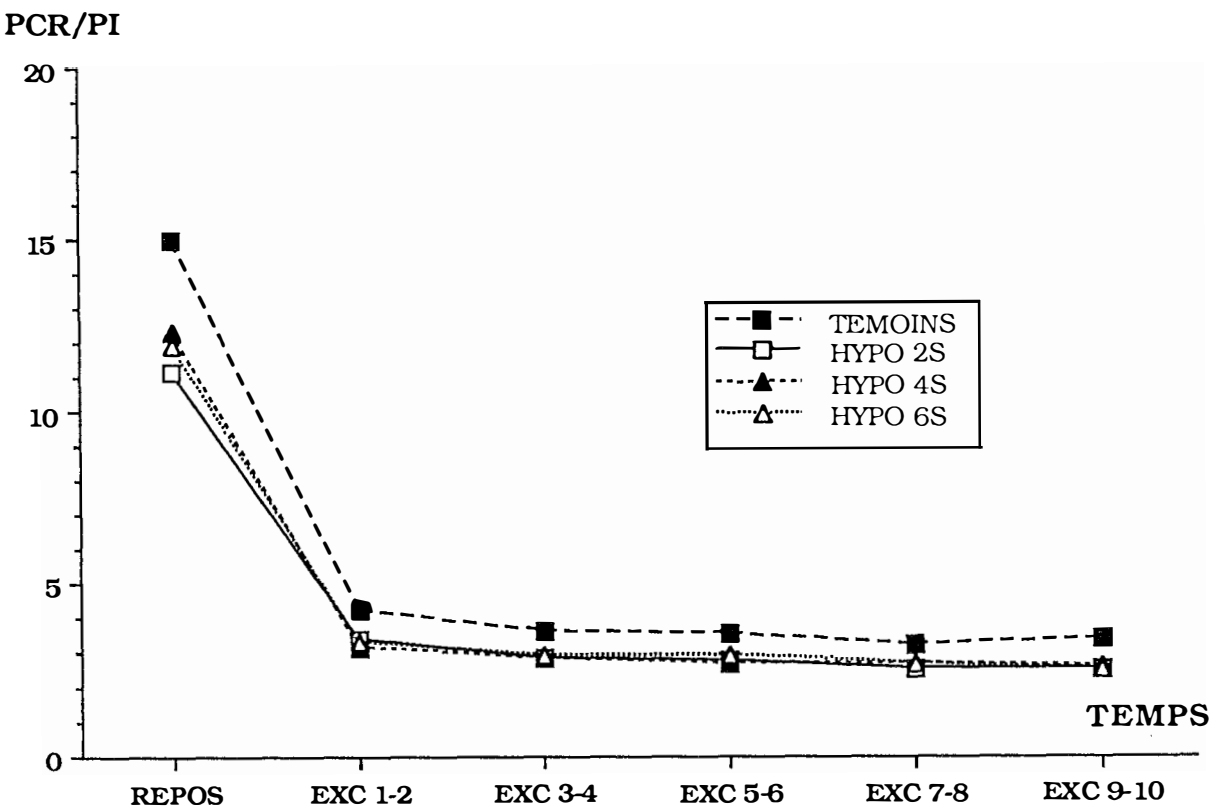
Le rapport Pm/ATP est sensiblement égal dans les 4 groupes de rats.

FIGURE 6



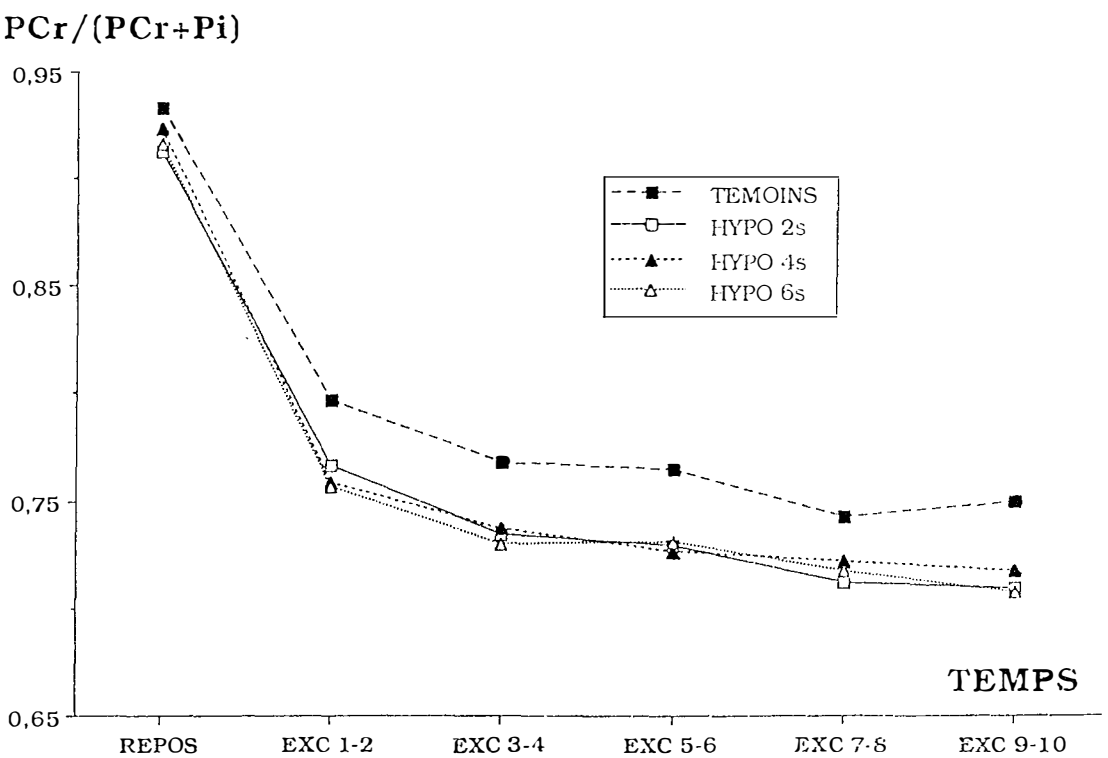
EVOLUTION DU PH INTRACELLULAIRE EN COURS D'EXCITATION

FIGURE 7



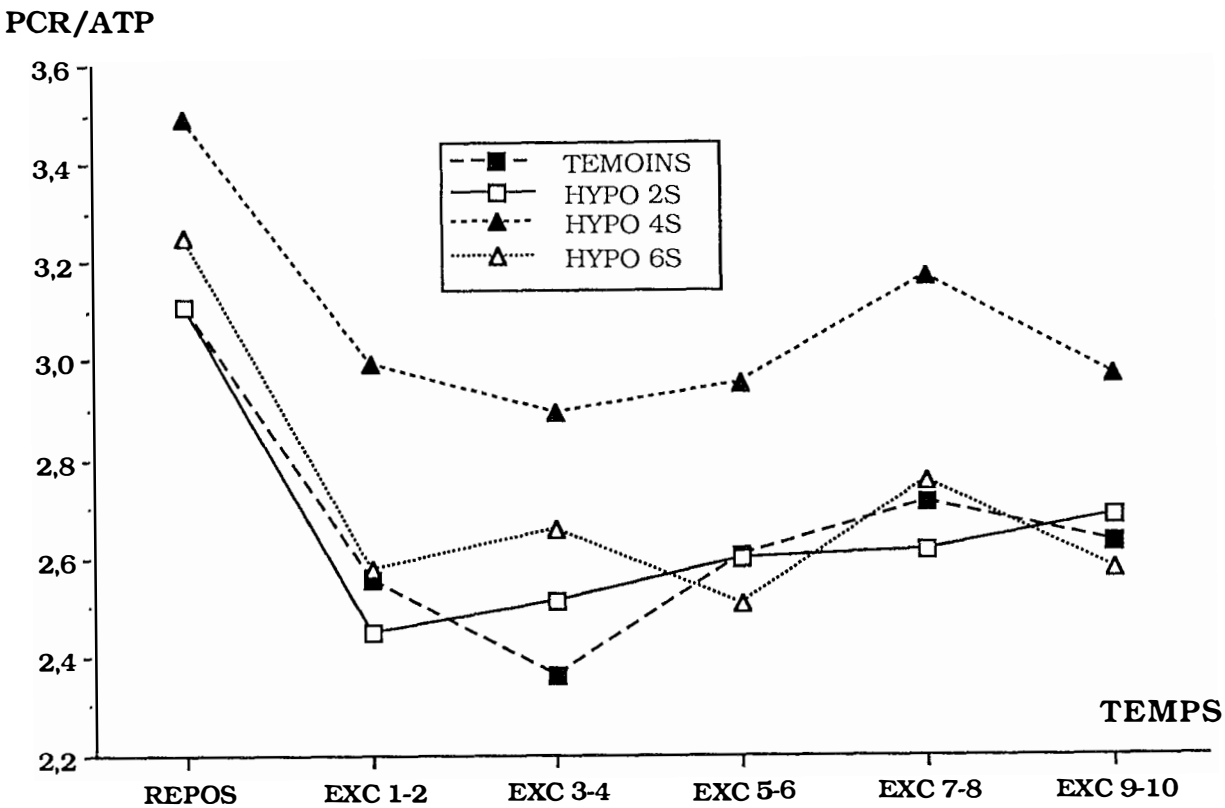
EVOLUTION DU RAPPORT PCR/PI PENDANT LA STIMULATION

FIGURE 8



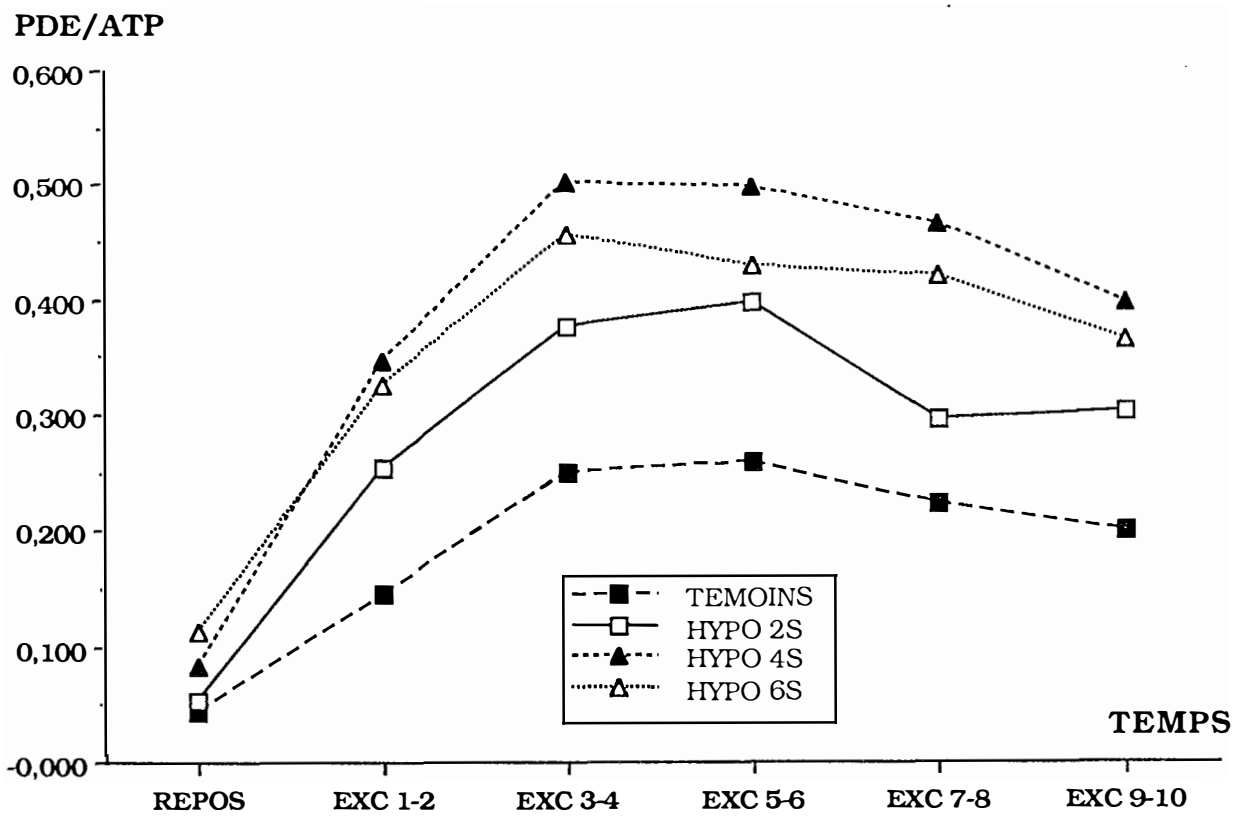
EVOLUTION DU RAPPORT PCr/(PCr+Pi) EN COURS D'EXCITATION

FIGURE 9



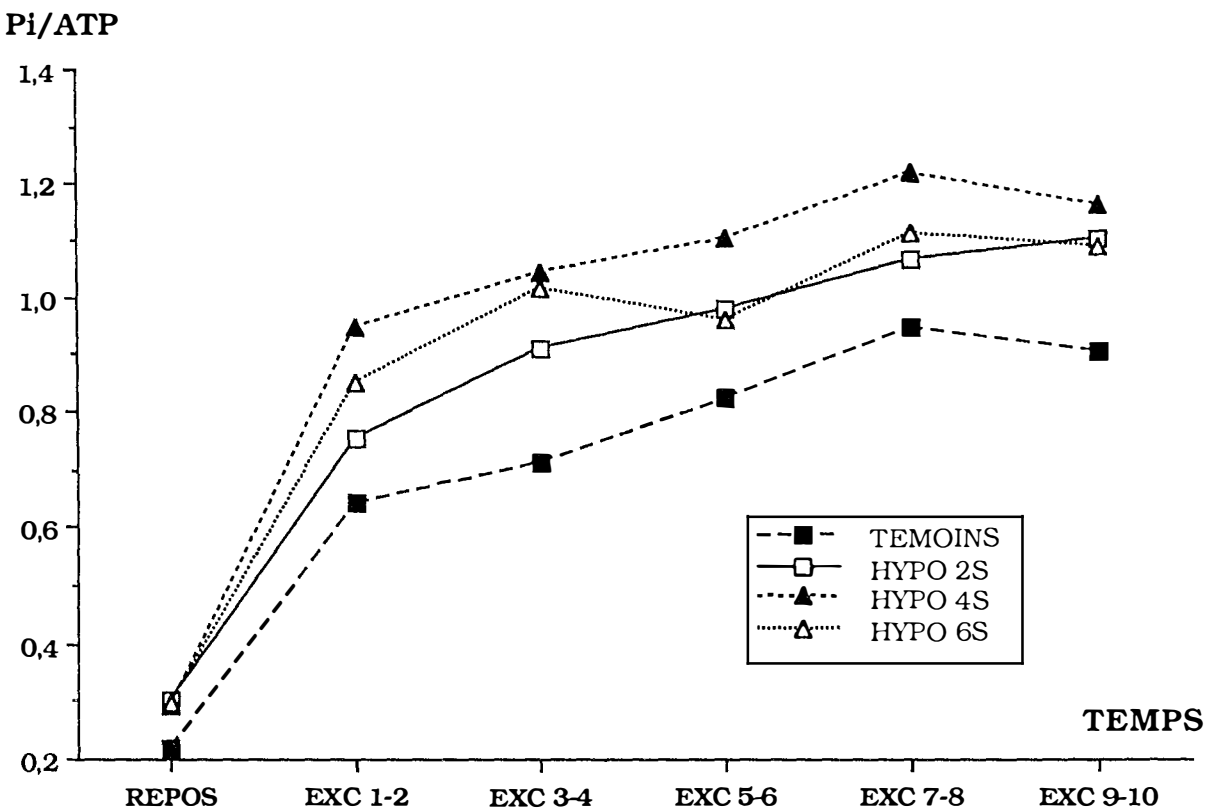
EVOLUTION DU RAPPORT PCR/ATP PENDANT L'EXCITATION

FIGURE 10



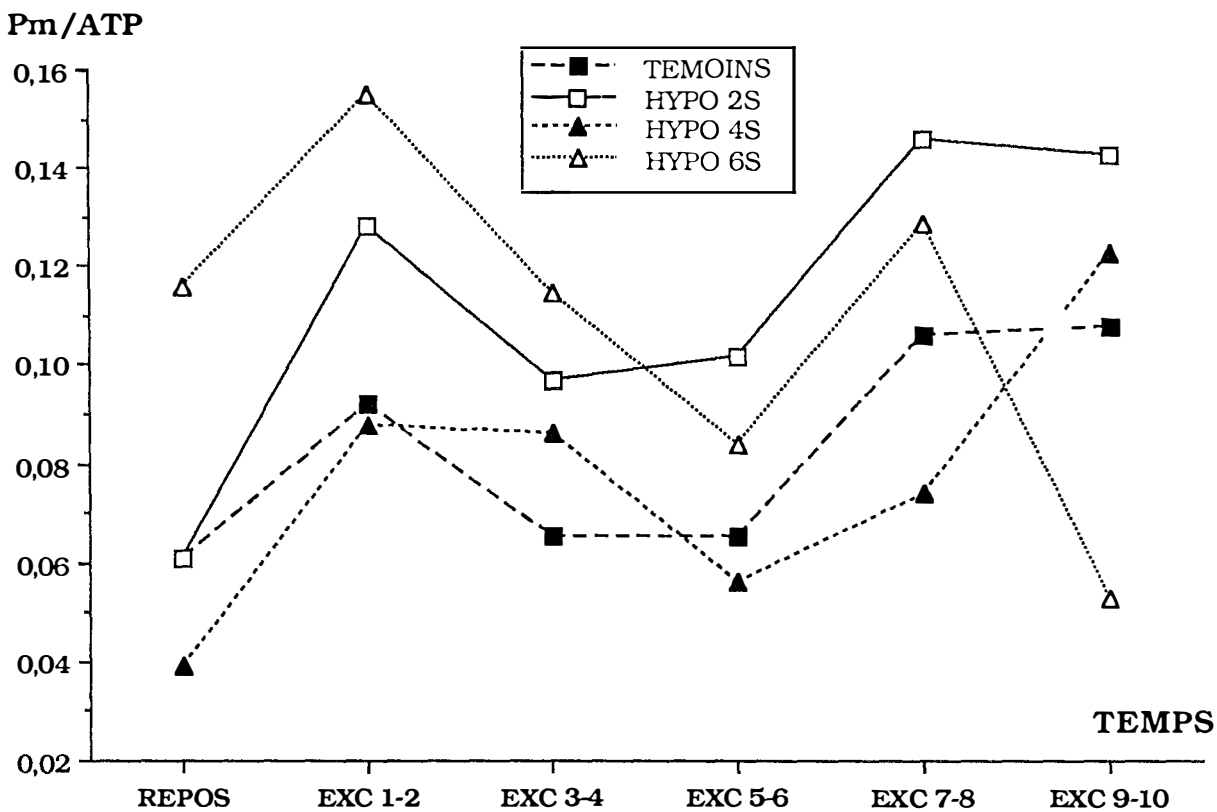
EVOLUTION DU RAPPORT PDE/ATP PENDANT L'EXCITATION

FIGURE 11



EVOLUTION DU RAPPORT Pi/ATP DURANT L'EXCITATION

FIGURE 12



EVOLUTION DU RAPPORT Pm/ATP DURANT L'EXCITATION

4.3.2. Modifications spectroscopiques observées à l'effort

La plupart des paramètres étudiés présentent des variations à l'effort. Nous nous proposons de rapporter ces modifications en nous aidant des tableaux annexes 1 à 4 et des figures 6 à 12.

Les groupes hypothyroïdiens présentent une déplétion plus marquée en PCr. Le rapport PCr/Pi est abaissé de façon significative chez les rats hypothyroïdiens ($p < 0,05$).

Le comportement est sensiblement parallèle dans les quatre groupes d'animaux avec une chute brutale des rapports dès le début de l'excitation (valeurs de repos divisées par 3 à 4 après 2 minutes de stimulation) puis un infléchissement rapide, la diminution des rapports devenant asymptotique.

Le pH suit également une évolution sensiblement parallèle dans les 4 groupes (figure 6). Après une diminution progressive de celui-ci jusqu'à la fin de la 4ème minute d'excitation, se précise une réascension progressive jusqu'à la fin de cette phase. Les rats hypothyroïdiens présentent une acidification plus importante que les rats témoins avec un point vallée significativement abaissé ($p < 0,01$, résultat de l'analyse de variance globale). Toutefois, on notera une réascension plus lente du pH dans les groupes HYPO 4S et HYPO 6S ($p < 0,01$ au test t de Student) par rapport au groupe témoin après 8 minutes d'excitation.

Le rapport PCr/ATP diminue pendant 2 (groupes HYPO 2S et HYPO 6S) à 4 minutes (groupe témoin et HYPO 4S) puis augmente de façon plus progressive et modérée jusqu'à la fin de l'excitation où les valeurs mesurées demeurent inférieures aux valeurs initiales (figure 9). Seul le groupe HYPO 4S présente un comportement significativement différent des autres groupes avec des valeurs du rapport constamment supérieures.

Le rapport PDE/ATP augmente dans les 4 groupes jusqu'à un maximum situé environ vers la moitié de l'excitation. Le groupe témoin présente toujours des valeurs significativement plus basses de ce ratio ($p < 0,001$, résultat de l'analyse de variance globale). La production de PDE dans le groupe HYPO 4S (surtout et de façon

significative) et dans le groupe HYPO 6S (à un degré moindre et non significative) est plus importante que dans les deux autres populations.

L'évolution du rapport Pm/ATP est identique dans les 4 groupes de rats et peut être appréciée sur la figure 12.

Après une ascension rapide durant les 2 minutes initiales de l'excitation, le rapport Pi/ATP augmente plus lentement jusqu'à la fin de l'effort. Les valeurs sont plus élevées dans les groupes hypothyroïdiens, mais seules les différences entre les groupes HYPO 4S et témoin sont significatives. Mises à part les 2 minutes initiales où l'augmentation parait plus brutale dans les groupes intoxiqués, l'évolution est sensiblement parallèle dans les 4 groupes. Les valeurs de repos sont multipliées par 3 à 4 à la fin de l'excitation. Par ailleurs, nous avons constaté à plusieurs reprises des pics de Pi bifides chez les rats intoxiqués.

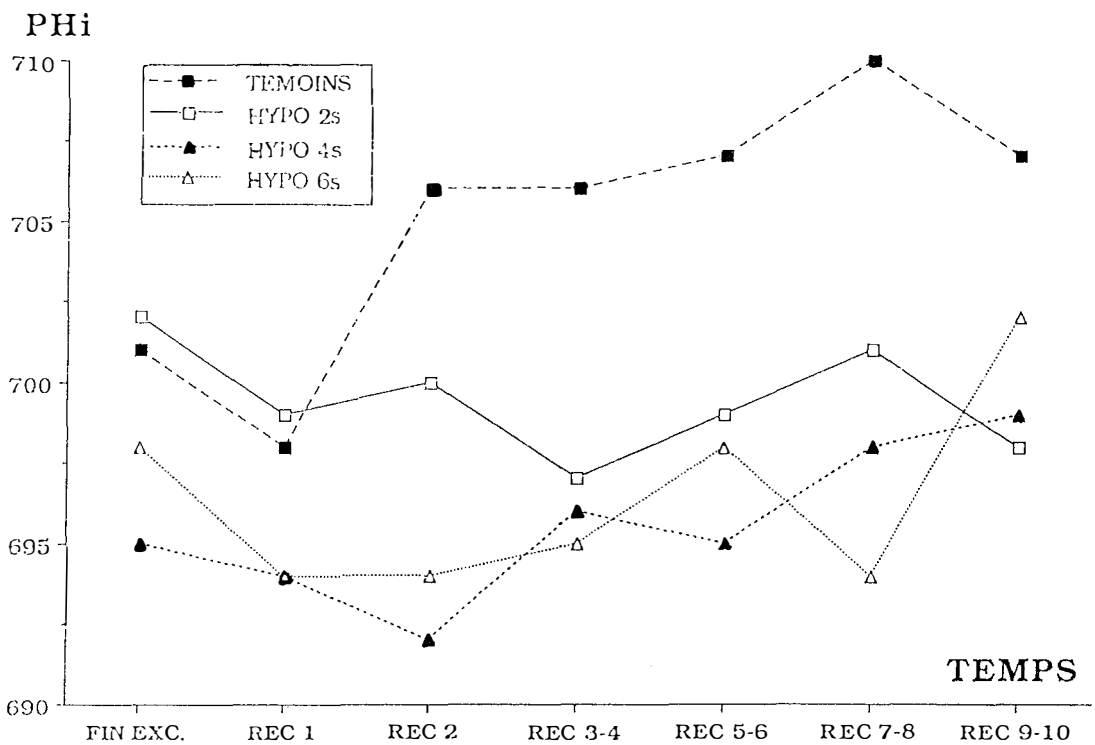
4.3.3. Modifications spectroscopiques de récupération

Les résultats sont représentés dans les tableaux annexes 1 à 4 et les figures 13 à 19.

Il existe une régénération de la PCr d'allure exponentielle comme l'attestent les rapports PCr/Pi et PCr/(PCr + Pi). L'analyse de variance met en évidence des rapports significativement beaucoup plus élevés dans le groupe témoin ($p < 0,001$) qui recouvre les valeurs de repos après 6 minutes de récupération, tandis que les rats intoxiqués ne récupèrent pas les valeurs initiales à la fin de la récupération, arbitrairement fixée à 10 minutes. La différence observée entre la fin de la récupération et le repos est hautement significative ($p < 0,01$) pour les groupes HYPO 4S et HYPO 6S ; elle ne l'est pas pour les 2 autres groupes.

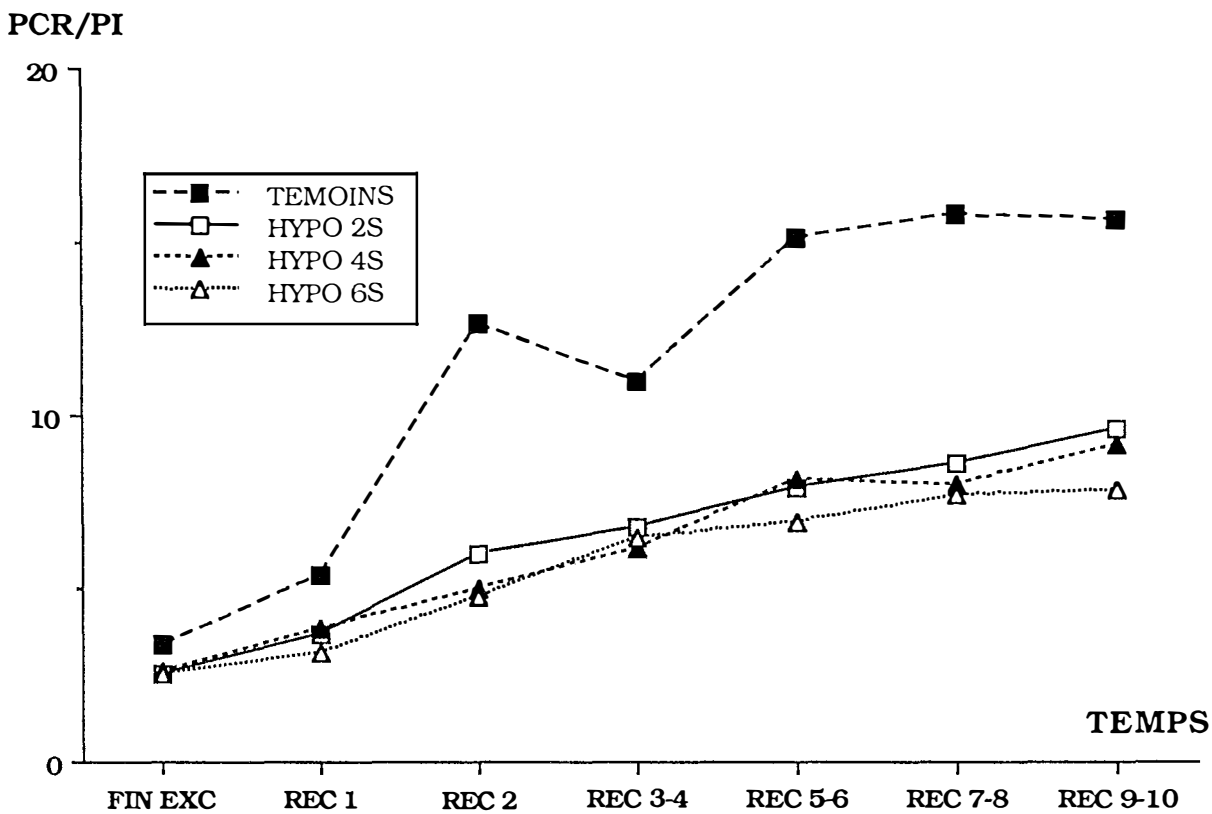
Les fluctuations du pH sont intéressantes également (figure13). Après une discrète acidification initiale, qui dure 1 à 2 minutes environ (4 minutes dans le groupe HYPO 2S) se produit une réascension, lente chez les rats intoxiqués, plus rapide chez les rats témoins, qui présenteront donc un pH plus alcalin durant toute la récupération ($p < 0,001$). Durant les 2 premières minutes de la récupération, le groupe HYPO 2S présentera un comportement intermédiaire, avec des valeurs différentes des 3 autres groupes.

FIGURE 13



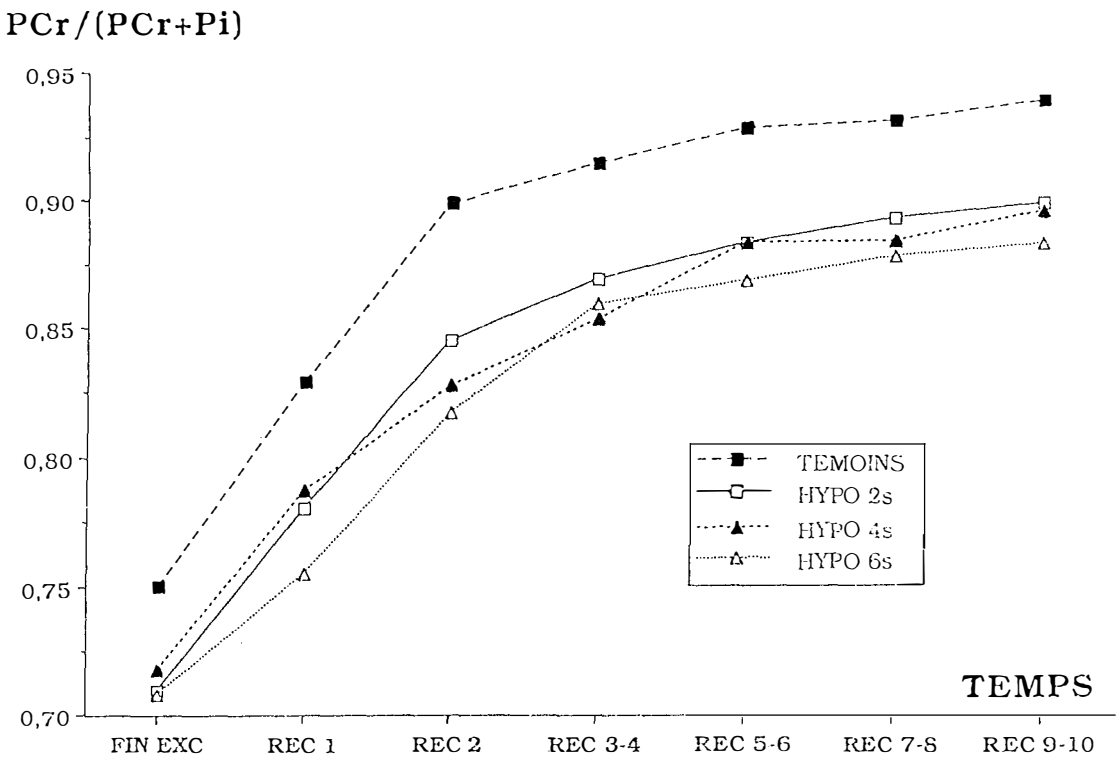
EVOLUTION DU PH INTRACELLULAIRE LORS DE LA RECUPERATION

FIGURE 14



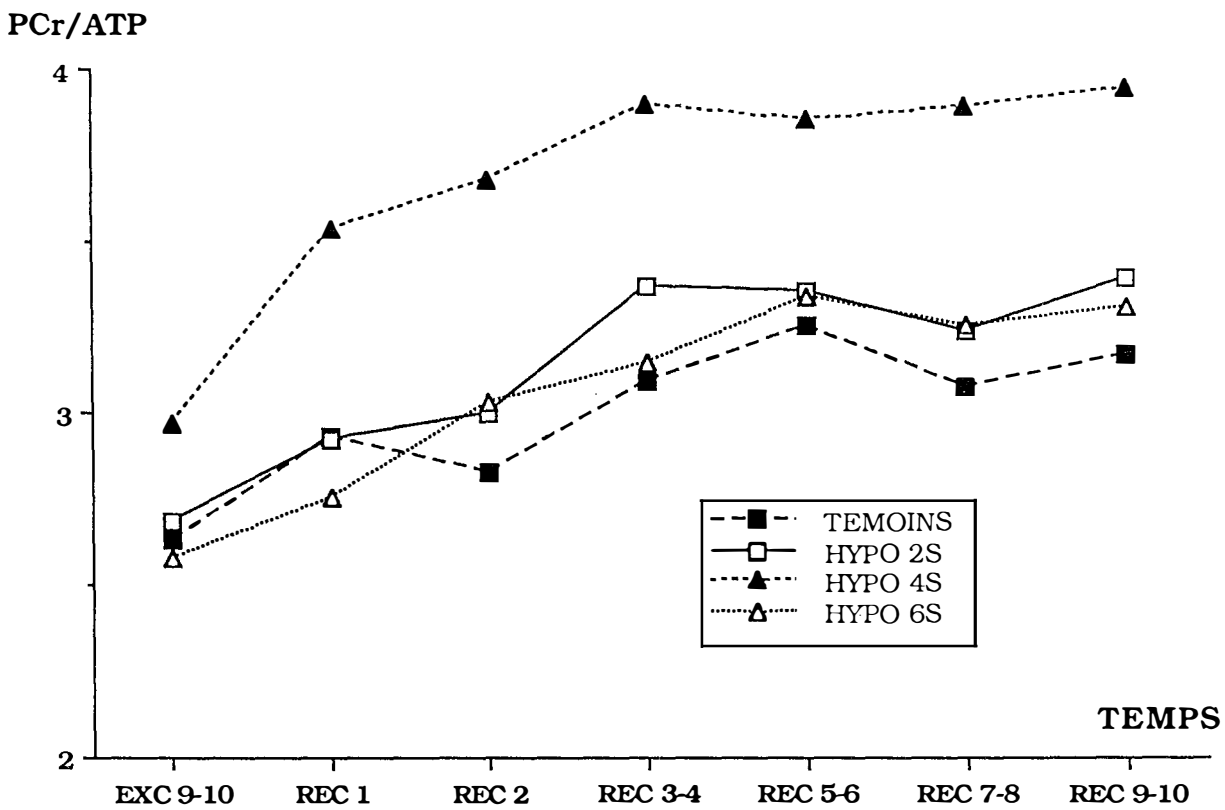
EVOLUTION DU RAPPORT PCR/PI DURANT LA RECUPERATION

FIGURE 15



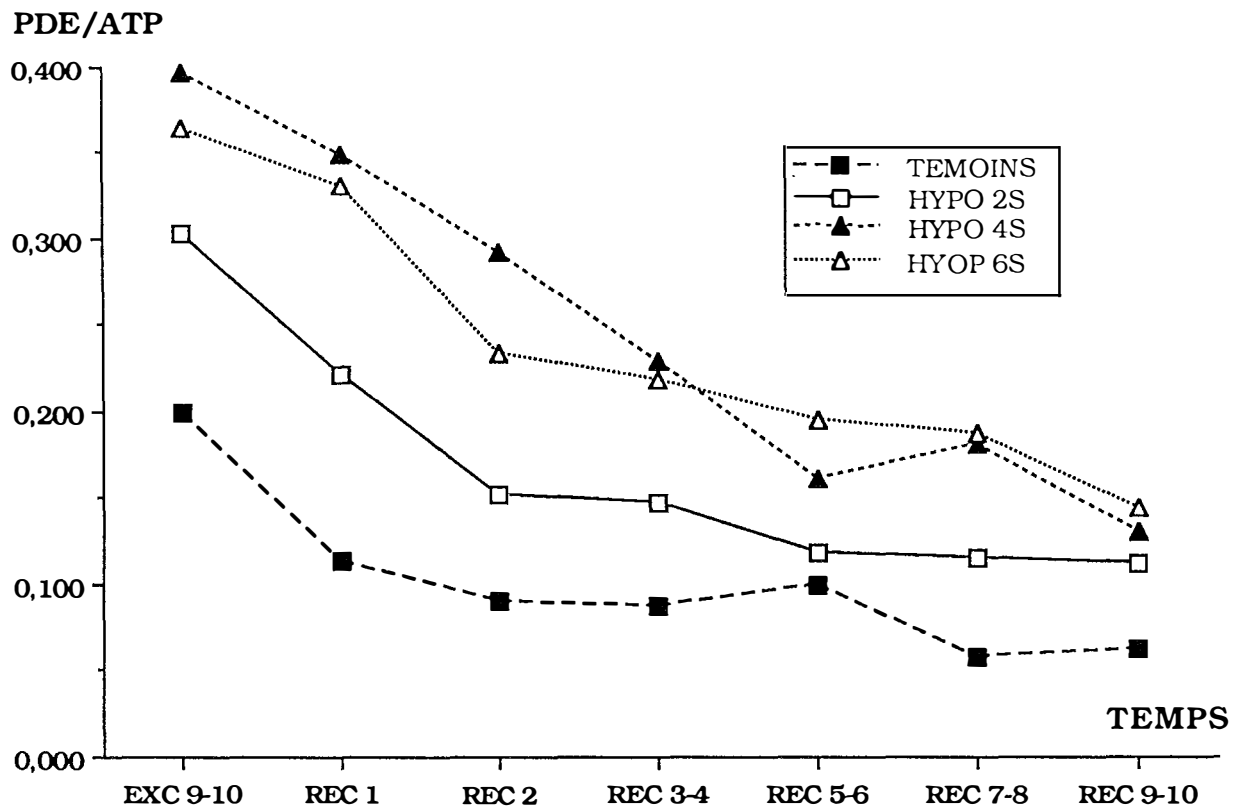
EVOLUTION DU RAPPORT PCr/(PCr+Pi) LORS DE LA RECUPERATION

FIGURE 16



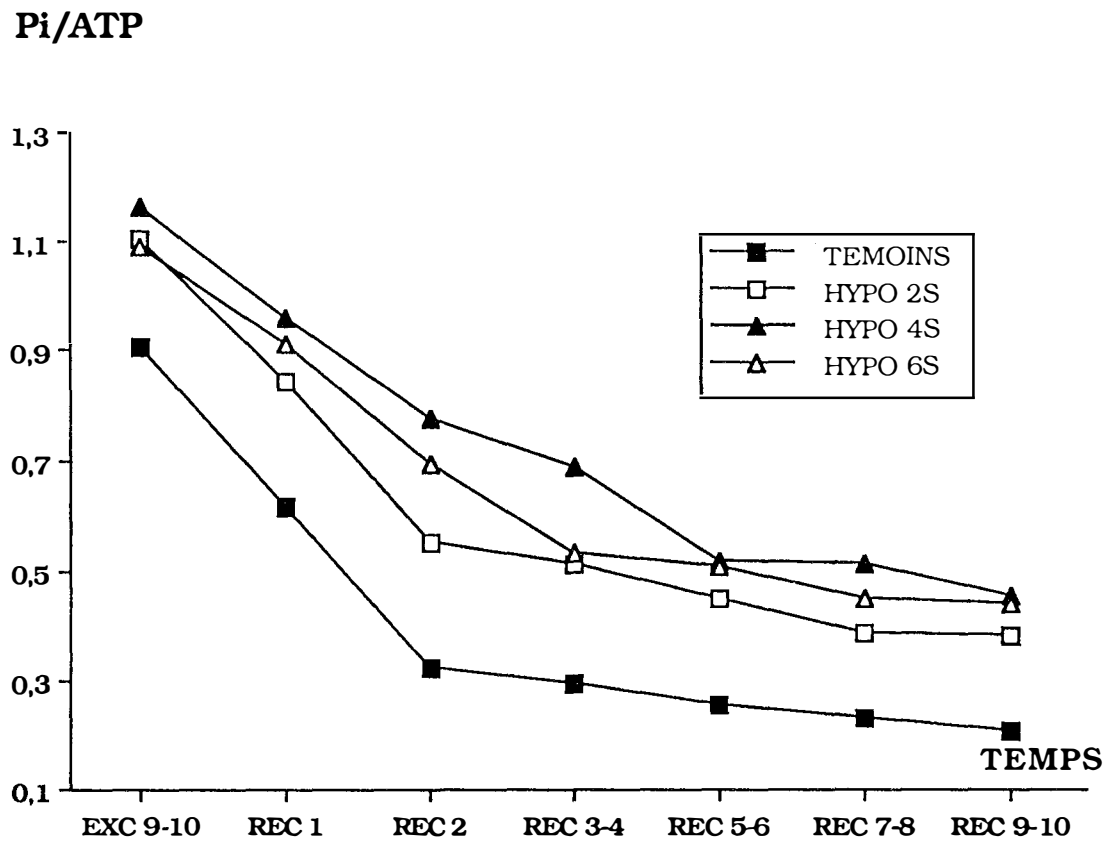
EVOLUTION DU RAPPORT PCr/ATP PENDANT LA RECUPERATION

FIGURE 17



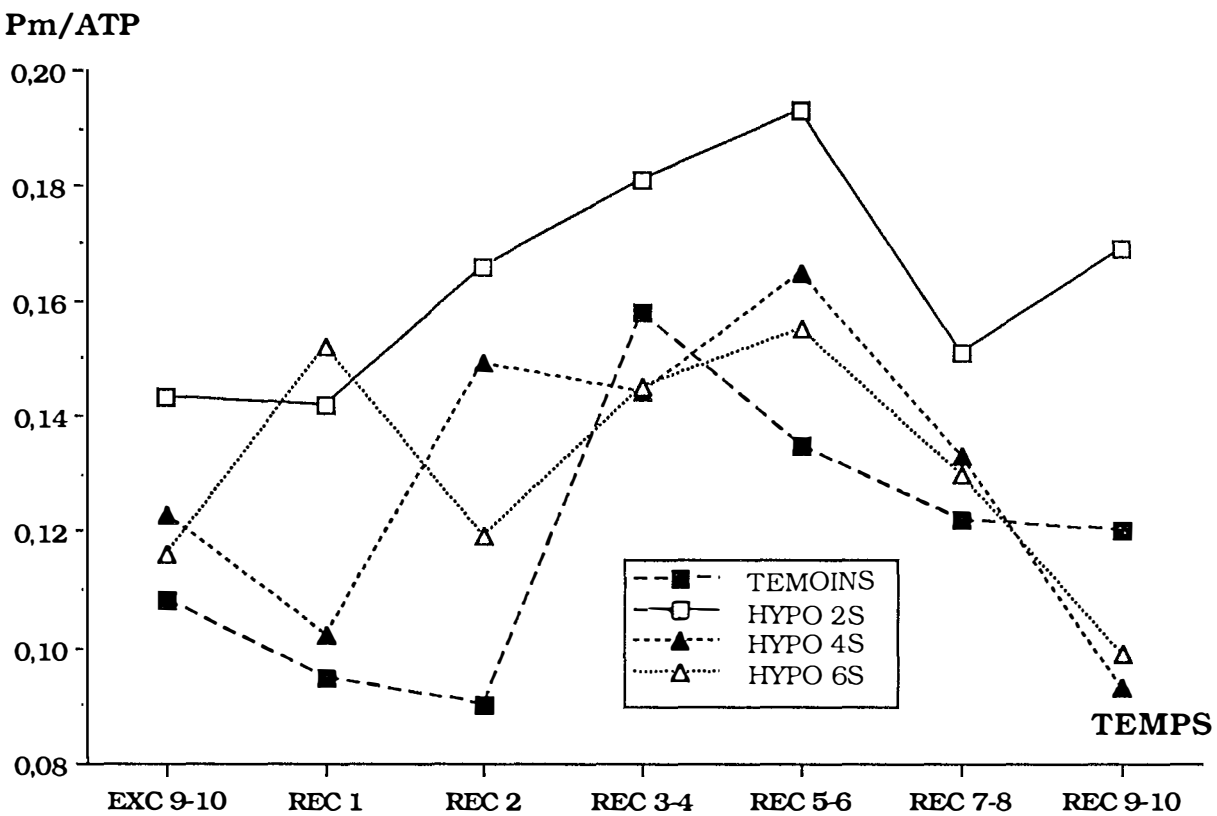
EVOLUTION DU RAPPORT PDE/ATP DURANT LA RECUPERATION

FIGURE 18



EVOLUTION DU RAPPORT Pi/ATP DURANT LA RECUPERATION

FIGURE 19



EVOLUTION DU RAPPORT Pm/ATP PENDANT LA RECUPERATION

En ce qui concerne le rapport PCr/ATP, les tendances déjà amorcées lors de l'excitation se confirment comme cela peut être constaté sur la figure... Le groupe HYPO 4S présente en permanence des valeurs significativement supérieures aux 3 autres groupes. Il est intéressant de noter que toutes les valeurs constatées en fin de récupération sont supérieures aux valeurs de repos. Elles ne sont cependant significativement augmentées que dans les groupes HYPO 2S et HYPO 4S,.

Les PDE continuent à décroître dans les 4 groupes, les rats témoins continuant d'en produire significativement beaucoup moins ($p < 0,001$ en recourant à l'analyse de variance). Les valeurs du rapport PDE/ATP à la fin de la récupération, sont plus élevées de 50 % (témoins) à 100 % (HYPO 2S) par rapport aux valeurs de repos.

Le rapport Pi/ATP poursuit sa décroissance.

La différence entre les rats témoins et les animaux intoxiqués est considérable (plus du double pour ces derniers en fin de récupération ; $p < 0,001$). Cette différence qui s'est accentuée au fil des minutes conduit les rats hypothyroïdiens à des valeurs supérieures aux valeurs de repos tandis que le groupe témoin présente un ratio en deçà. L'évolution constatée dans le groupe HYPO 2S suggère un comportement intermédiaire. D'ailleurs, la différence entre les valeurs constatées en fin de récupération et les valeurs de repos ne sont significatives que pour les groupes HYPO 4S et HYPO 6S. ($p < 0,01$).

Le rapport Pm/ATP ne laisse pas apparaître de différence entre les divers groupes.

5. DISCUSSION

Les principales données de la littérature concernant les myopathies hypothyroïdiennes sont d'ordre clinique, physiologique, biochimique et anatomo-pathologique. Les études spectrométriques en ^{31}P RMN sont extrêmement rares (5, 205). Nous serons donc amenés à confronter nos principaux résultats soit à des études n'y faisant pas appel, soit à des protocoles spectroscopiques portant sur la physiologie du muscle normal ou atteint d'une autre variété d'affection.

5.1. INTERET DE NOTRE ETUDE

Notre étude en spectroscopie en ^{31}P RMN comparant 3 groupes de rats présentant une hypothyroïdie d'intensité croissante, à un groupe témoin indemne de toute endocrinopathie nous a conduit aux conclusions suivantes :

• la myopathie hypothyroïdienne est une affection primitivement métabolique qui génère secondairement des modifications anatomiques. Le primum movens semble se situer à l'échelon mitochondrial ce qui ferait entrer cette complication dans le cadre des myopathies mitochondriales. Le principal argument en faveur de cette hypothèse est l'existence d'une diminution des réserves énergétiques immédiatement disponibles pour le muscle qui, par ailleurs, consomme plus rapidement ses réserves. Cela se traduit en spectrométrie ^{31}P RMN par un rapport PCr/Pi (et PCr/(PCr + Pi) plus faible au départ et qui décroît plus vite et à des niveaux moindre par rapport aux témoins à l'exercice. De surcroît, il existe une inertie à la récupération de cette forme de réserve d'énergie qu'est la PCr avec une récupération moins rapide et même incomplète après 10 minutes par rapport à la population témoin. ARGOV (3) a d'ailleurs estimé que l'association d'un rapport PCr/Pi de base effondré et d'une récupération ralentie de ce rapport après exercice est un excellent argument en faveur d'une myopathie mitochondriale.

Une discrète augmentation du rapport PCr/ATP pourrait également traduire une altération du fonctionnement mitochondrial (cette ascension pourrait dans ce cas être imputée à une diminution des stocks d'ATP).

La deuxième découverte fondamentale de notre étude (et c'est à notre connaissance la première fois qu'une telle conclusion est publiée dans une étude spectroscopique) est l'installation excessivement rapide du trouble métabolique. En effet, les rats traités par PTU depuis 2 semaines à peine, et qui, de ce fait présentent une hypothyroïdie encore plus récente, subissent déjà les répercussions à l'étage musculaire du dysfonctionnement endocrinien. Cette précocité d'installation du trouble était déjà pressentie par l'étude de la consommation de l'oxygène, du glucose, et la production de lactate, de glycérol par Van HARDEVELD et KASSENAAR (211) chez des rats ayant subi une thyroïdectomie isotopique.

Notons enfin l'évolution progressive de la myopathie. C'est pourquoi le groupe des rats intoxiqués par PTU durant 4 semaines présente un comportement qui peut sembler quelquefois paradoxal au vu des résultats bruts (rapports PCr/ATP et PDE/ATP). Cela traduit sans doute l'existence de phénomènes transitoires ou adaptatifs qui s'estompent ou qui sont dépassés si l'intoxication persiste plus longtemps. Un de ces phénomènes pourrait être la transformation des fibres de type II à glycolyse prédominante en fibres de type I dont le métabolisme est essentiellement oxydatif.

5.2. EXAMEN CRITIQUE DE NOTRE TRAVAIL

5.2.1. Méthodologie

3 méthodes sont principalement employées afin de générer une hypothyroïdie chez les animaux de laboratoire.

- soit une thyroïdectomie chirurgicale (5, 29, 79, 89, 108, 207)
- soit une irathérapie à l'iode 131 (76, 211)
- soit l'administration d'un antithyroïdien de synthèse : carbimazole (159), méthimazole (81) ou propylthiouracile (PTU) (11, 12).

Nous avons opté pour l'administration orale de PTU en raison de sa facilité d'emploi, de son moindre coût, et pour nous mettre à l'abri d'interférences telle une hypoparathyroïdie qui peut toujours être observée en cas de geste chirurgical, et qui

est elle-même source d'anomalies neuromusculaires. Le schéma utilisé est celui préconisé par BERGSETH et al.. (18), plus facile à mettre en place que des injections itératives intrapéritonéales de PTU. Il convient toutefois de mentionner l'existence d'un cas unique de polymyosite après administration de PTU à un patient pour une hyperthyroïdie (193).

5.2.1.1. *A propos des conditions expérimentales*

Deux reproches importants pourraient être émis à l'encontre de notre étude :

- d'une part le travail musculaire n'est pas quantifié
- d'autre part, nous n'avons pas effectué de contrôle de la température des rats.

En ce qui concerne la première réserve, il faut reconnaître qu'elle aurait pu constituer une entrave sérieuse à la validité de l'étude. En effet, malgré une procédure expérimentale rigoureusement identique pour tous les rats, faisant appel à des contactions isométriques d'intensité sous maximale et sensiblement identiques, nous avons constaté des écarts types importants, relevant sans doute de cette erreur méthodologique. Néanmoins, l'absence de différence significative si l'on utilise un test de comparaison des variances (test de Fischer - Snedecor) justifie à postériori le choix effectué.

En ce qui concerne le deuxième reproche, le fait que tous les rats travaillaient dans la même ambiance thermique ne saurait être pleinement satisfaisant dans la mesure où les rats hypothyroïdiens ont une tendance spontanée à réduction de la thermogénèse (16, 105) et la carence hormonale se traduit par un refroidissement plus rapide de l'ensemble de l'organisme impliquant un ralentissement des cinétiques enzymatiques. Cependant, un réchauffage des rongeurs durant une vingtaine de minutes avant l'installation au sein de l'aimant du spectromètre réduit cette source d'erreur au minimum. Un système de chauffage à l'intérieur du cylindre magnétique pourrait être une amélioration substantielle dans les expérimentations à venir (127, 223).

Rappelons toutefois à ce stade que dans un travail récent, BOLLAERT n'a pas trouvé de différence significative inhérente à l'hypothermie ni à l'hypoxie modérée entraînée par ce type de protocole expérimental (25)

La justification du type de stimulation utilisée dans ce travail réside dans le désir d'étudier le métabolisme aérobie. Certes, il faut reconnaître que les déplétions en PCr ne sont guère importantes. Cependant, l'essentiel était d'obtenir des niveaux sensiblement identiques de déplétion ce qui permet d'ailleurs une discussion plus rigoureuse de la récupération, et d'arriver à un état d'équilibre où la part inhérente aux métabolismes anaérobies devait être réduite au maximum.

5.2.1.2. *A propos du recueil des spectres*

Il est très difficile d'obtenir un compromis entre l'obtention d'un maximum d'informations (par exemple, dans notre étude, dès les stades les plus précoces de l'excitation [après une minute, voire 30 secondes])et l'accumulation de données précises, entachées d'un minimum d'erreur. C'est pourquoi nous avons utilisé des temps d'acquisition de spectre relativement longs (2 minutes, sauf en début de récupération) ce qui nous prive de quelques informations intéressantes, mais nous procure des spectres d'excellente définition, avec un bruit de fond peu gênant. Par ailleurs,la plupart des spectres présentent une ligne de base quadratique. Le système d'intégration informatique des spectres entraîne donc une surestimation de la valeur réélle de certains pics.

5.2.1.3. *A propos des dosages hormonaux*

La technique radio-immunologique est la méthode de référence pour le dosage des hormones thyroïdiennes. Cependant, contrairement à la pathologie humaine où l'on se base sur les valeurs augmentées de TSH pour affirmer l'hypothyroïdie, nous avons préféré dans cette étude, recourir au dosage des hormones thyroïdiennes libres (FT3 et FT4) tout aussi fiable, compte tenu d'une antigénicité croisée très faible de la TSH du rat vis à vis de la stimuline humaine.

5.2.2. Résultats

5.2.2.1. *pH intracellulaire*

Le pH intracellulaire (pHi) des trois groupes de rats hypothyroïdiens est plus acide que celui des rats témoins, et ce, au repos, durant l'exercice et lors de la récupération. Le pHi mesuré chez nos rats témoins au repos (7,145 ± 0,041) est identique à celui mesuré dans d'autres études (34, 70, 148).. Les études portant sur des biopsies objectivent des pH plus bas (70) ainsi que certaines études spectroscopiques (127, 139, 146).

En dépit de certaines tentatives de mesure (85) le Pi du compartiment mitochondrial ne paraît pas participer significativement à la résonance observée dans le spectre (183) et de ce fait n'intervient pas dans le calcul du pHi.

Les variations du pHi en cours d'exercice ont bien été décrites par RADDA et coll. (172), ARNOLD et al.. (7), KUSHMERICK et MEYER (127). Des valeurs de pH inférieures à 6 ont pu être mesurées, mais nécessitent une consommation de près de 60 % de la PCr (172). Ce n'est pas le cas dans notre étude où le pH demeure en permanence supérieur à 6,55 compte tenu d'un effort aérobie modéré.

L'acidose relative des muscles hypothyroïdiens a été retrouvée dans les autres études de spectroscopie RMN (205) mais sa pathogénie reste encore à élucider. L'attribuer à une production accrue de lactates est tentant, d'autant qu'une étude chez le chien a rapporté un tel processus (126). Néanmoins, elle ne semble pas devoir être imputée à la seule production de lactates, puisque plusieurs études biochimiques anciennes mettent en évidence :

- soit une production amoindrie de lactates en cas d'hypothyroïdie (211)

- soit une production de lactates égale à celle des témoins ou non significativement augmentée au repos, mais diminuée à l'effort (76, 214)

- soit une acidose secondaire à l'ischémie plus faible dans l'hypothyroïdie (119, 141).

Cependant, dans ces études, des conditions expérimentales différentes (mise en place d'un garrot 3 minutes avant l'exercice, ou bien stimulation tétanique dont on sait depuis les travaux de GRAY et STUB en 1967 qu'elle bloque l'arrivée de sang [et donc d'oxygène] au muscle (93)) rendent compte de conditions de fonctionnement musculaire anaérobie (et donc glycolytiques) et non aérobie comme dans notre étude. De plus, la lactatémie ne reflète pas forcément le pH du milieu intracellulaire (139).

La plupart des études anatomopathologiques portant sur les modifications structurales dans la myopathie hypothyroïdienne mettent en évidence des modifications dans les proportions des différents types de fibres musculaires (112, 142, 144, 159, 163, 214).

En effet, du point de vue fonctionnel, les muscles ne constituent pas un tissu homogène mais sont pour la plupart constitués de fibres dont les propriétés mécaniques sont différentes. Il existe une corrélation entre ces propriétés mécaniques et les caractéristiques histochimiques et morphologiques de la fibre, ce qui a permis d'aboutir à des classifications, hélas encore discutées (tableau 4)

On distingue principalement 2 types de fibres (9, 27, 28, 66, 116, 190) :

• les fibres de type I, anciennement appelées fibres rouges en raison de leur richesse en myoglobine, qui sont des fibres à contraction lente et puissante, moins excitables et permettant une action soutenue, prolongée (fibres de l'endurance). Du point de vue biochimique et enzymatique, ces fibres sont caractérisées par une activité ATPase, liée à la myosine préincubée à pH 9,4, faible, une activité glycolytique basse (malgré une teneur en glycogène sensiblement équivalente à l'autre type de fibre). En revanche, l'activité ATPase préincubée à des pH de 4,3 et 4,6 est élevée. Leur teneur riche en mitochondries s'accompagne d'un potentiel accru en activités enzymatiques oxydatives.

• les fibres de type II sont des fibres à contraction rapide caractérisées par une activité ATPase à pH 9,4, liée à la myosine élevée. Le système enzymatique de la glycolyse est bien développé. Elles sont elles mêmes subdivisées en 3 sous-groupes :

TYPE DE FIBRE M	1	2A	2B	2C
ROUTINE ATP Ase				
ATP Ase préincubée à pH 4,6				
ATP Ase préincubée à pH 4,3				
NADH-TR				
SDH				
Alpha glycerophosphate-Menadione				
PAS	+			
PHOSPHORYLASE	+			

Réactions histochimiques dans le muscle humain

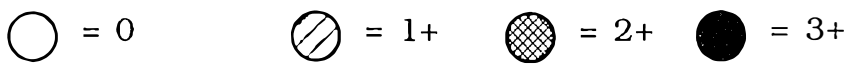


Tableau 4

Principales caractéristiques des différents types de fibre musculaire strié

- les fibres de type IIA qui présentent encore un potentiel oxydatif élevé, renfermant de la myoglobine leur conférant une teinte rouge. Relativement pauvres en système glycolytique par rapport aux autres fibres de type II, elles sont à la fois rapides et résistantes à la fatigue. Elles ont une activité ATPase inhibée après préincubation à pH 4,6.

- les fibres de type IIB sont des fibres blanches, pourvues en mitochondries riches en phosphorylases, réactives à la myosine ATPase à pH 9,4, qui est inhibée après préincubation à pH 4,3.

La source d'énergie étant la glycolyse, ces fibres bénéficient d'une vitesse de contraction rapide, mais sont précocément épuisables.

- les fibres de type IIC sont rares dans le muscle normal. Il s'agit d'un type de fibre intermédiaire entre IIA et IIB.

La proportion entre fibres de type I et II semble être un caractère génétique (9).

Or, cette proportion tend à être modifiée lorsque se développe une hypothyroïdie. Ainsi, décrit-on classiquement dans cette endocrinopathie :

. une prédominance des fibres de type I (119, 142, 143, 159, 163, 214)
. une atrophie sélective des fibres de type II (119, 142, 143, 163, 214)
. une diminution du diamètre des fibres de type II (119, 142, 143, 163, 214)
. une hypertrophie des fibres de type I (119, 142, 143, 163, 214)

NICOL et JOHNSTON (159) décrivent, au sein des fibres de type II, une augmentation des fibres de type IIA et une diminution des fibres de type IIB dans l'hyperthyroïdie et une diminution des fibres IIA dans l'hypothyroïdie.

Il a été clairement démontré que le phénotype des fibres musculaires est déterminé par la variété du motoneurone de la corne antérieure de la moelle qui l'innerve. Ce sont essentiellement des études d'innervation croisée (15, 30, 31, 150, 151) ou de stimulation chronique (2, 107, 168) qui ont permis de vérifier cette propriété. Ainsi, par exemple, si à la naissance, on désinsère un jambier antérieur de chat pour le placer en position d'extenseur, il conserve sa prédominance de fibres de type II (or,

les extenseurs sont à prédominance de fibres de type I). C'est pourquoi admettre un changement de phénotype des fibres musculaires revient à discuter de l'authenticité de la myopathie hypothyroïdienne en invoquant une atteinte primitivement neurogène.

Les travaux de NWOYE et al.. (162) ont cependant permis de démontrer l'atteinte myogène primitive des états de dysfonctionnement thyroïdien. En effet, en étudiant les altérations induites par les états d'hypothyroïdie et d'hyperthyroïdie, à la fois sur des muscles normalement innervés et sur des muscles dénervés, ces auteurs ont affirmé l'impact direct des hormones thyroïdiennes. Les modifications observées en cas d'hypothyroïdie sont notamment une diminution des fibres de type II, des activités ATPase myofibrillaires et liées à la myosine, des chaînes légères rapides de la myosine et de l'absorption du calcium par le réticulum sarcoplasmique. Des changements d'une ampleur similaire, mais en sens inverse sont décrits en présence d'une hyperthyroïdie.

A la faveur de ces résultats, nous pouvons envisager plusieurs explications à l'acidose relative des hypothyroïdies.

L'acidose pourrait s'expliquer par la seule modificaton structurale des muscles, avec notamment l'enrichissement en fibres de type I et l'appauvrissement en fibres de type IIA.

Les travaux de MEYER et al.. ont montré que le soleus était plus riche en lactates que le biceps au repos (147). Or, le soleus est presque entièrement constitué de fibres de type I tandis que le biceps est à prédominance de fibres glycolytiques. C'est pourquoi, dans l'hypothyroïdie, l'augmentation des fibres oxydatives devrait s'accompagner, de ce fait, en conditions basales, d'une augmentation de lactates pouvant entraîner une discrète acidose. Cette explication est séduisante, mais le pH mesuré par MEYER et al.. (147) est le même dans les deux types de muscles, et de ce fait, une autre possibilité doit être envisagée.

Une deuxième hypothèse est une diminution des capacités oxydatives qui serait à l'origine d'un fonctionnement en anaérobiose relative. Or, la modification architecturale du muscle se fait en faveur des fibres de type I. On conçoit donc mal qu'un muscle, fonctionnant en aérobie et pourvu proportionnellement de plus de fibres oxydatives, se mette à fonctionner dans le sens d'une accélération des processus

glycolytiques anaérobie, sauf si les fonctions oxydatives sont qualitativement altérées ce qui est effectivement le cas (159).

Une troisième hypothèse est celle d'une plus grande inertie des mécanismes d'adaptation respiratoire et circulatoire dans la délivrance du substrat oxygène lors d'un accroissement de la demande.

En effet, au cours d'exercices sous-maximaux, la principale source d'énergie est le système aérobie. La glycolyse anaérobie et le système des phosphagènes sont néanmoins impliqués au début de l'exercice où l'accroissement des besoins en oxygène n'est pas instantanément pourvu. Il se crée un déficit en oxygène, avant l'obtention d'un état stable, du fait de l'adaptation circulatoire et respiratoire. Lorsque l'état stable est atteint, la faible quantité d'acide lactique accumulée pendant la période de déficit en oxygène demeure relativement constante jusqu'à la fin de l'exercice et peut être même éliminé par combustion ou par resynthèse de glycogène hépatique si l'exercice est modéré (80, 176). C'est ce que nous observons effectivement dans nos 4 groupes de rats, avec cependant une acidose plus prolongée et plus importante dans l'hypothyroïdie du fait d'une lenteur de mise en route de l'adaptation cardiorespiratoire (bradycardie, ralentissement respiratoire..) et ce, d'autant plus que l'oxygène est fixé à l'hémoglobine plus intensément dans l'hypothyroïdie avec déplacement de la courbe de dissociation de l'hémoglobine vers la gauche (105). Cette explication peut être retenue pour expliquer les variations de pH à l'effort et lors de la récupération. Cependant, elle ne permet pas de définir l'origine de l'acidose relative de repos.

Une hypothèse pouvant rendre compte de nos observations au repos comme à l'exercice est l'existence d'une participation ventilatoire pouvant s'accompagner d'un certain degré d'acidose respiratoire. En effet, le diaphragme étant un muscle respiratoire, il n'est pas épargné par la myopathie hypothyroïdienne et pourra, le cas échéant, contribuer à une hypoventilation, source d'acidose. Cette anomalie peut par ailleurs venir se surajouter à un trouble de la diffusion des gaz (la DLCO a été retrouvée abaissée à 68 % des valeurs normales par WILSON et BEDELL) (220). En revanche, les troubles de l'adaptation à l'effort sont moins le fait de l'appareil respiratoire que de l'appareil cardiocirculatoire (155).

Une autre source d'acidification du pH pourrait être la stimulation de la glycogénolyse. Les modifications histologiques (glycogène plus élevé au repos, permettant une déplétion plus importante, diminution des fibres de type IIA lors de

l'hypothyroïdie [peut être au profit non seulement des fibres de type I mais aussi des fibres de type IIB compte tenu des variations respectives dans l'hyperthyroïdie (159)] et expérimentales (115) laissent supposer une intervention accrue de la glycogénolyse pour pallier la baisse du régime des fonctions oxydatives.

Pour d'autres auteurs cependant, c'est le phénomène inverse qui est observé dans l'hypothyroïdie. En effet, la glycogénolyse induite par les catécholamines et le glucagon est ralentie voire abolie dans l'hypothyroïdie (105) et la phosphorylase, activée par les hormones thyroïdiennes voit son activité inhibée en leur absence ce qui ralentit également la glycogénolyse (222).

Une pénultième explication pourrait être une baisse de l'hydrolyse de la phosphocréatine. L'hydrolyse de la PCr consomme des protons H^+ (146) en raison des pKa respectifs de la PCr et des Pi selon la formule :

$$PCr + H2O + \alpha\ H^+ \Leftrightarrow Créatine + Pi$$

(où le coefficient α est fonction du pH).

Cette propriété explique l'alcalinisation initiale très précoce du pHi qui est observée durant la première minute de stimulation dans plusieurs études spectroscopiques (139, 146).

Les phosphagènes servent alors de principale source d'énergie, du fait du retard pris par les phénomènes oxydatifs.

Dans l'hypothyroïdie on pourrait supposer que cette consommation soit amoindrie. Le pH serait par conséquent plus acide. Or, si l'on considère le rapport PCr/Pi ou PCr/(PCr + Pi) on s'aperçoit qu'il est plus élevé chez les rats témoins. Cela peut être dû soit à une PCr plus abondante, soit à des Pi présents en moindre quantité. Le plus souvent, ce rapport témoigne de la déplétion en PCr, c'est à dire de sa combustion avec production d'énergie et de Pi. Dans ce cas, il semble hautement improbable qu'au repos, il existe une moindre hydrolyse de la PCr en cas d'hypothyroïdie et il semble qu'il faille chercher ailleurs l'explication de l'acidose relative de repos.

Remarquons par ailleurs que, si nous n'observons pas l'augmentation initiale du pH lié à l'hydrolyse de la PCr, très importante au début d'un effort, cela

correspond à un manque de sensibilité, lié à l'accumulation spectrale, sur 2 minutes dans notre étude, éliminant de ce fait les renseignements précoces d'une étude s'appuyant sur des acquisitions spectrales plus courtes.

Une dernière hypothèse pour rendre compte du pH initial plus bas chez les rats hypothyroïdiens est la possible existence d'un trouble du métabolisme des cations qui interférerait avec la production des ions H^+ aux différentes étapes des systèmes de synthèses énergétiques, notamment au niveau de la chaine respiratoire. Mais si des anomalies de la pompe à sodium ont été décrites dans les dysthyroïdies (75), ainsi que des troubles de la perméabilité de la membrane interne des mitochondries vis à vis des cations (96), l'existence d'interrelations avec le métabolisme des ions H^+ est encore du domaine des conjectures théoriques. Il est cependant connu que des troubles de la perméabilité membranaire existent bel et bien dans les dysthyroïdies et que le taux des lactates mesurés dans le sang ne reflète aucunement le pH intracellulaire (178).

Il est en fait fort probable que la baisse du pH observée de façon de plus en plus intense à mesure que l'hypothyroïdie s'accentue, soit la conjonction de plusieurs des phénomènes que nous venons de décrire et qu'il faille en réalité raisonner en terme de résultante de plusieurs mécanismes. Un mécanisme univoque nous semble bien improbable.

La cinétique de la normalisation du pH durant la phase de récupération est quelque peu différentes suivant les auteurs. Pour KUSHMERICK et MEYER (127), le temps de restauration du pH est de 150 ± 22 secondes soit 5 fois plus lent que pour la PCr et les Pi. Pour TAYLOR et al.. (204), après 2 à 3 minutes. le pH se restaure de manière linéaire à raison de 0,07 unités de pH/minute.

Enfin, il faut retenir que la question de l'hétérogénérité du pH au sein du tissu ou de la cellule a été soulevée, notamment par MEYER et al.. (148). Le témoin en serait l'élargissement du pic de résonance du Pi au cours de la contraction, reflet de l'hétérogénéité du comportement métabolique des fibres.

Pour notre part, nous avons constaté à plusieurs reprises, dans les populations hypothyroïdiennes, principalement durant l'effort, des pics de Pi bifides. Nous les interprétons, tout comme MASSIE et al.. (139), comme traduisant le comportement protonique différent de deux populations de fibres musculaires. Ce

phénomène peut traduire soit la participation de 2 variétés de fibres musculaires aux propriétés glycolytiques différentes (fibres de type I et de type II), soit l'existence de populations, d'unités motrices, oeuvrant dans des conditions environnementales différentes (redistribution vasculaire, fibres plus ou moins contractées...)

Cette anomalie du pic des Pi n'a, à notre connaissance, jamais été rapportée dans la myopathie hypothyroïdienne. Nous l'interprétons comme le stigmate de l'existence d'une population de fibres musculaires accusant une glycolyse ou une glycogénolyse accrue. Dans ce cas de figure, nous avons choisi comme valeur de pH, soit celle correspondant au pic le plus important, si une importante disparité existait entre l'amplitude des deux sommets du pic, soit en présence de deux sommets de dénivelé sensiblement identique, la moyenne des deux pics.

Ce phénomène permet de trouver une explication supplémentaire à l'existence d'un pH plus bas dans les populations hypothyroïdiennes à chaque instant de l'expérimentation. Il est compatible avec des études biochimiques faisant état d'une diminution des phénomènes oxydatifs dans l'hypothyroïdie, le muscle puisant alors ses substrats énergétiques dans les carburants glycolytiques (12, 108). Ce mécanisme peut d'ailleurs exister dans un contingent de fibres seulement, puisque d'autres études font état d'une altération de la glycogénolyse dans le myxoedème (141).

En conclusion, si nous comparons nos résultats aux deux études consacrées à la spectroscopie en ^{31}P RMN (5, 205), nous constatons une tendance à l'acidose plus prononcée dans notre étude. Dans notre protocole expérimental comparant 3 groupes de 12 rats présentant une hypothyroïdie, de sévérité croissante, nous avons clairement démontré l'existence d'une acidose significative dans ce cas. En revanche, dans l'étude de TAYLOR et al.. (205), durant l'exercice, la baisse du pH est modeste. Dans celle d'ARGOV et al.. (5) elle est même inexistante. Cependant, ces études ont porté sur de petites séries de patients ou/et de rats hypothyroïdiens ($n = 7$ et $n = 2+8$ respectivement).

Une étude comportant d'une part des rats présentant une dysthyroïdie encore plus profonde, d'autre part des exercices d'intensité croissante, permettrait sans doute de préciser cette tendance.

5.2.2.2. Rapports PCr/P, PCr/(PCr + Pi) et PCr/ATP

L'énergie libérée au cours de la dégradation des aliments n'est pas utilisée directement pour fournir le travail musculaire. Elle doit donc être stockée pour être disponible au moment opportun. Elle est de ce fait employée pour synthétiser un composé chimique de réserve à haut potentiel énergétique de réserve : l'ATP qui est emmagasinée dans toutes les cellules musculaires.

L'ATP, lors de la dégradation d'une mole de ce substrat, libère de 7 à 12 kilocalories par liaison phosphate riche en énergie (80) qui sont utilisées par la contraction musculaire.

Or, la concentration d'ATP dans le muscle est suffisante pour quelques contractions seulement. Par conséquent, pour que le muscle puisse se contracter plusieurs fois, l'ATP doit être reconstituée au fur et à mesure de son hydrolyse (61). Ceci est réalisable par le biais de plusieurs voies métaboliques dont les plus importantes du point de vue bioénergétique sont indiquées sur le tableau n° 5.

REACTION	QUANTITE D'ATP PRODUITE (en mole) par UNITE DE SUBSTRAT	
GLYCOGENE (1) -> lactate	3	Sarcoplasme
GLUCOSE -> lactate	2	Sarcoplasme
LACTATE (2) -> CO2 + H2O	17	Mitochondries
GLYCOGENE (1) -> CO2 + H2O	37	Mitochondries + sarcoplasme
GLUCOSE -> CO2 + H2O	36	Mitochondries + sarcoplasme
AGL -> CO2 + H2O (Acides gras libres)	138	Mitochondries
ACETOACETATE	23	Mitochondries
ß hydroxy-butyrate	26	Mitochondries

Tableau n° 5

Production d'ATP par unité de substrat dans différentes voies métaboliques

[d'après DI PRAMPERO in (60)]

(1) : par unité glycosidique

(2) : dégradatation exclusivement hépatique notée à titre documentaire.

Les voies métaboliques considérées sont toutes excessivement complexes. Nous les avons schématisées en annexe pour mémoire.

Du fait de l'inertie de la mise en route, elles n'interviennent qu'avec retard par rapport à la demande énergétique. Cependant, la consommation d'ATP est instantanée lors de la contraction musculaire . Afin d'éviter une chute néfaste de la concentration d'ATP avec pour conséquence l'arrêt de l'activité musculaire, il existe un système de reconstitution instantanée de l'ATP par l'intermédiaire d'une réserve immédiate. Ce système est le système ATP-PCr ou système des phosphagènes (80, 170). Dans ce système, l'énergie nécessaire à la resynthèse de l'ATP provient de la dégradation d'un seul composé : la créatine phosphate ou phosphocréatine ou PCr. La chute de la concentration en ATP est évitée grâce à la PCr dont la concentration dans le muscle squelettique est 3 à 4 fois supérieure à celle de l'ATP (14 à 18 mmoles/kg de poids de muscle frais et 4 à 5 mmoles/kg de poids de muscle frais respectivement (61).

L'hydrolyse de la PCr conduit à la libération d'énergie immédiatement disponible pour le resynthèse de l'ATP par une réaction couplée, et à la production de phosphates inorganiques qui seront réutilisés soit pour la synthèse d'ATP à partir d'ADP soit pour reconstituer la PCr. Les réactions couplées peuvent se résumer ainsi d'une manière simplifiée :

PCr -> Cr + Pi + énergie
Energie + ADP + Pi -> ATP avec Cr : créatine libre

En fait, la réaction qui fait intervenir la créatine phosphokinase (CPK) ou créatine phosphore transférase est plus complexe, faisant intervenir des ions H^+ (d'où l'alcalinisation modérée, lors de l'hydrolyse massive de la PCr, au début de la réaction, qui consomme des ions H^+ comme nous l'avons vu précédemment) et des ions magnésium pour devenir :

$$PCr^{-2} + Mg\,ADP^{-1} + H^{+1} \xrightarrow[(2)]{(1)\ CPK} Cr + Mg\,ATP^{-2}.$$

La constante d'équilibre de la réaction 1

$$K = \frac{(ATP)(Cr)}{(ADP)(PCr)}$$

est d'environ 20 en conditons physiologiques

- avec (ATP) = conc. en ATP
  (ADP) = en ADP
  (Cr) = en créatine
  (PCr) = en PCr

De ce fait, la concentration de l'ATP reste pratiquement inchangée jusqu'à de très faibles concentrations de PCr (6 mmol/kg).

Il faut cependant savoir que les réserves de l'organisme en phosphagène sont elles mêmes très faibles et qu'elles suffiraient à peine pour une centaine de contractions dans le muscle de la grenouille (61) et seraient probablement épuisées chez un homme après seulement 10 secondes d'un exercice aussi intense qu'un sprint (80).

C'est pourquoi, très rapidement, les voies métaboliques indiquées dans le tableau 5 vont prendre le relais (60).

En conclusion, la PCr constitue donc une espèce de tampon énergétique et de "starter", qui va initier l'activité musculaire en octroyant aux voies métaboliques plus lentes le temps nécessaire à leur mise en route. Ceci permet d'éviter une déplétion de l'ATP musculaire en cours d'exercice sous-maximal. De plus, l'hydrolyse de la PCr libère des Pi qui joueraient un rôle important dans la glycolyse et/ou la glycogénolyse. Même si le rôle de la PCr n'est pas essentiel pour la création d'un état d'équilibre énergétique (146), il ne faut pas mésestimer son importance.

Au début d'un exercice, il faut au moins 2 à 3 minutes pour que la consommation d'oxygène ($\dot{V}02$) s'ajuste à l'effort (80). Ce délai nécessaire aux ajustements biochimiques et physiologiques survenant lors du passage d'un état de repos à un état d'activité constitue la période de déficit d'oxygène. C'est au cours de cette période de déficit en oxygène, (déjà mentionnée dans le chapitre consacré au pH) que le système des phosphagènes et la glycolyse anaérobie sont sollicités pour fournir l'ATP.

Secondairement se crée un état stable où les mécanismes aérobies prennent le relais consumant initialement du glycogène et secondairement des lipides (80). La PCr n'est alors plus consommée.

Lors de la récupération, le remboursement de la dette d'oxygène est associé à la resynthèse des réserves énergétiques qui ont été épuisées (régénération de la PCr) et à l'élimination de l'acide lactique accumulé au cours de l'exercice. Les phosphagènes sont resynthétisés très rapidement pendant les toutes premières minutes de la récupération (9, 60, 80, 100)

On a pu démontrer l'existence de 2 isoenzymes différents de la CPK : une liée au système mitochondrial et l'autre rattachée à la bande M des myofibrilles (21). Le rapport entre les 2 décrit une boucle ou navette de la phosphocréatine et peut être schématisé simplement grâce au modèle de BESSMAN et GEIGER (21) (figure 20).

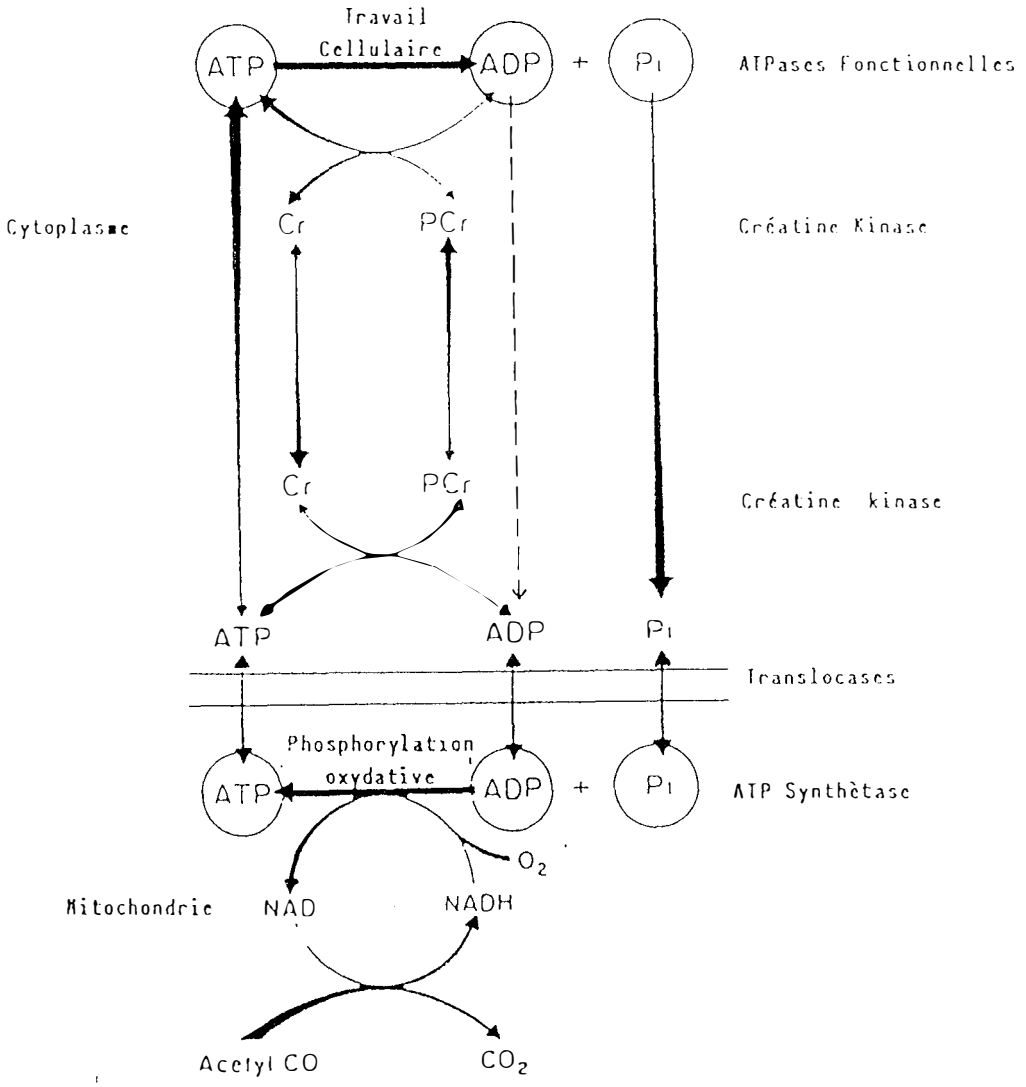


Figure 20

Le mécanisme de fonctionnement de la phosphocréatine en tant que transporteur d'énergie. Le transit énergétique s'effectue comme une navette entre les 2 isoenzymes de la CPK, l'une située en regard de la bande M de la myofibrille, l'autre attachée à la paroi de la mitochondrie
(d'après BESSMAN et GEIGER (21))

CHANCE a repris cette figure pour exprimer les sites analysables par la R.M.N. (44)

La spectroscopie RMN en phosphore 31 rend compte de l'ensemble de ces mécanismes tel un oeil magnétique rivé sur les métabolismes. On obtient le pic de PCr qui sert généralement de pic de référence, le pic de Pi (dont le déplacement chimique permet le calcul du pH d'après la formule de RADDA) et les 3 pics d'ATP.

La comparaison des résultats spectroscopiques aux données des dosages biochimiques sur des biopsies musculaires a confirmé la validité de la technique (48, 70, 148).

Néanmoins, il existait une petite différence entre les concentrations de repos de la PCr (plus basses avec les techniques biochimiques) et des Pi (plus importants avec ces mêmes techniques par rapport aux mesures spectroscopiques). Cette différence a été attribuée à des artéfacts, notamment la congélation des prélévements musculaires, qui, occasionnant une hydrolyse de la PCr, induirait une diminution de sa concentration et une augmentation au pro rata des Pi (147). Cela confirme des travaux antérieurs démontrant une hydrolyse de la PCr dans les muscles de grenouille secondaire à des temps de congélation de l'ordre de 100 ms (87). Cet artéfact, par ailleurs plus important dans les fibres à contraction rapide que dans les fibres lentes oxydatives, serait secondaire à l'activité ATPase liée à la myosine, plus intense dans les fibres rapides. Cette activité ATPase serait stimulée par la libération de calcium (CA++) lors de la congélation, et, couplée à la rephosphorylation de l'ADP par le biais de la CPK, serait à l'origine d'un certain degré d'hydrolyse de la PCr (147).

S'il est possible de suivre l'évolution de la concentration en PCr (éventuellement sous la forme d'une concentration en unités arbitraires) (95), la tendance actuelle est de suivre l'évolution de différents rapports : Pi/PCr, actuellement remplacé par PCr/Pi, qui est considéré comme le juste reflet de l'état bioénergétique cellulaire (39, 41). Pi étant petit devant PCr, notamment au repos, de petites variations peuvent engendrer des majorations considérables ou des diminution spectaculaires de ce rapport. C'est pourquoi le rapport PCr/(PCr + Pi) et l'étude de ses variations permet de gagner un peu de précision et notamment d'amoindrir les fluctuations liées aux incertitudes de mesure sur un muscle en mouvement (139). Comme DUBOC et al., (65), nous avons égalemnet étudié les variations du rapport [PCr/(PCr + Pi + Pm)], mais les résultats nous paraissent redondants, compte tenu des valeurs modestes de Pm et de l'absence de différence pour ce paramètre entre les différents groupes.

Au repos, le rapport PCr/Pi vaut 15,038 ± 3,97 chez nos rats témoins et le rapport PCr/(Pi + PCr) : 0,933 ± 0,02.

Ces valeurs sont voisines de celles observées dans d'autres études RMN ou biochimiques (tableau 6).

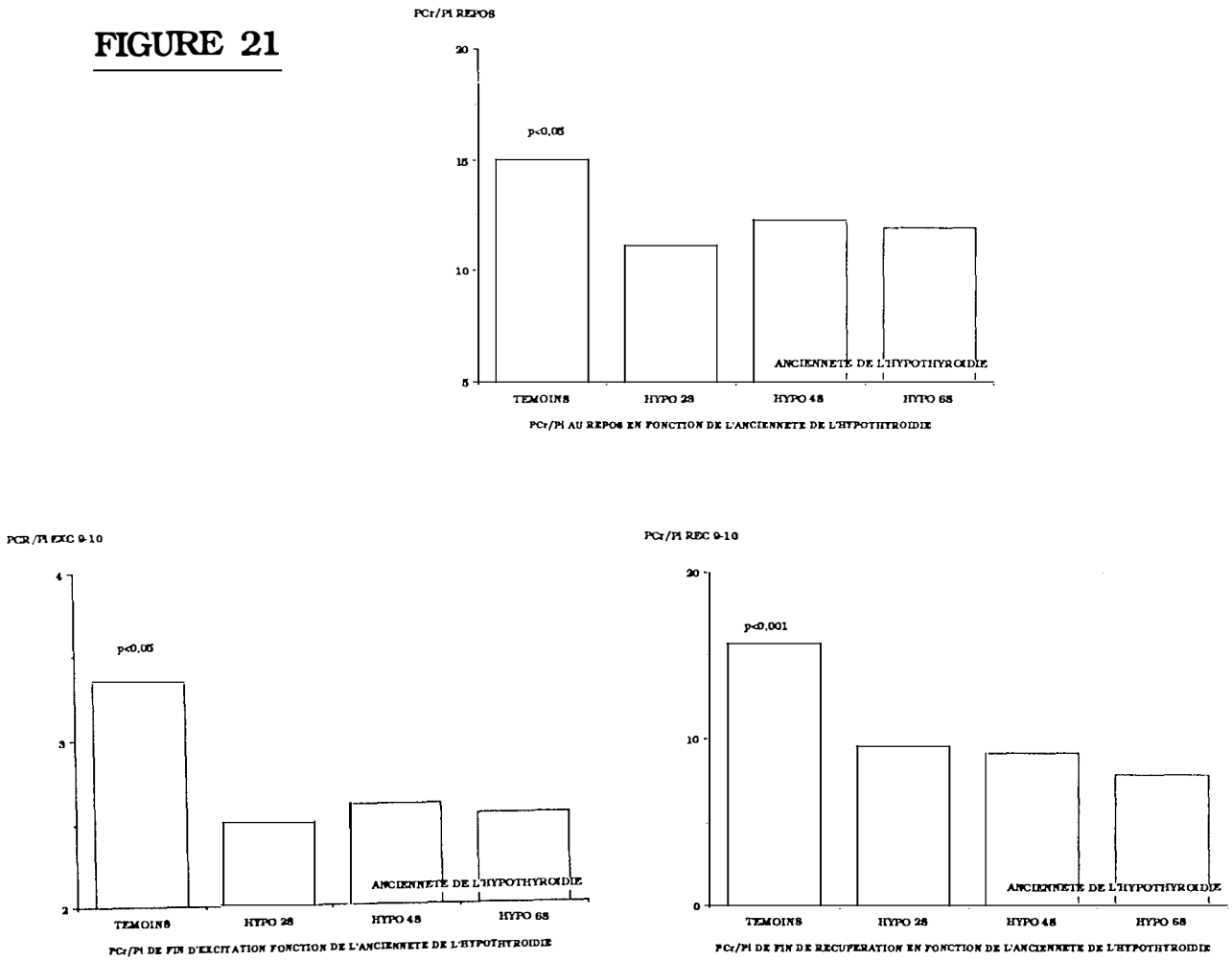
Valeur étudiée (témoins) / Nom de l'expérimentateur	PCr/Pi		PCr / (PCr + Pi)	
	RMN	Dosage biologique	RMN	Dosage biologique
DAWSON et al.. (1977) Muscle de grenouille (48)	16,02 ± 1,58	13,10 ± 3,03	0,942	
EDWARDS et al.. (1982) Muscles humains (70)	6,679	1,74	0,871	0,550
MEYER et al.. (1982) Muscle de chat (148)	24,44 biceps	3,71 biceps	0,96 biceps	0,788 biceps
	2,16 soleus	1,27 soleus	0,684 soleus	0,56 soleus
KUSHMERICK et MEYER (1985 Muscle de rat (127)	9,84		0,908	
MEYER et al.. (1985) Musoles de ohat (172)	11,18 biceps		0,918 biceps	
	1,76 soleus		0,638 soleus	
RADDA et TAYLOR (1985) Muscles Humains (172)	9,92		0,908	
	10,62	3,02	0,914	0,751
MEYER et al.. (1986) Muscle de rat (146)	11,76		0,922	
ARGOV et al.. (1987-88) Muscles humains (3, 5)	8,5 ± 2,1			
MASSIE et al.. (1987) Muscles humains (139)	9,58		0,906	
TAYLOR et al.. (1989) Muscles humains (205)	9,21 ± 1,89			

Tableau n° 6

Valeurs des rapports PCr/Pi et PCr (PCr + Pi) du muscle strié squelettique au repos dans les principales études de la littérature

Les valeurs observées chez les rongeurs hypothyroïdiens au repos sont abaissées par rapport au groupe témoin. La différence n'est cependant significative qu'avec le groupe HYPO 2S (figure 21)

FIGURE 21



Ces résultats rejoignent ceux décrits par ARGOV et al.. (5) et par TAYLOR et al.. (205). Dans la première de ces deux études, l'équipe d'ARGOV retrouve une baisse significative du rapport PCr/Pi chez les patients hypothyroïdiens. En revanche, ses 8 rats thyroïdectomisés présentent une diminution non significative de ce rapport.

Les valeurs du rapport PCr/Pi mesurées par spectroscopie ^{31}P RMN reflètent, nous l'avons vu, l'état énergétique de la cellule (95). Une diminution de ce rapport au repos, témoin d'une baisse des réserves énergétiques du muscle, initialement décrite dans les myopathies mitochondriales (8), n'est malheureusement

pas spécifique de ces affections puisqu'elle a également été décrite dans des cas de maladie de Duchenne de Boulogne, de polymyosite, de déficit en phosphorylase avec atrophie musculaire, dans des cas d'artériopathie sévère (4, 155, 224). Le primum movens de la diminution de ce rapport fait encore l'objet de discussions.

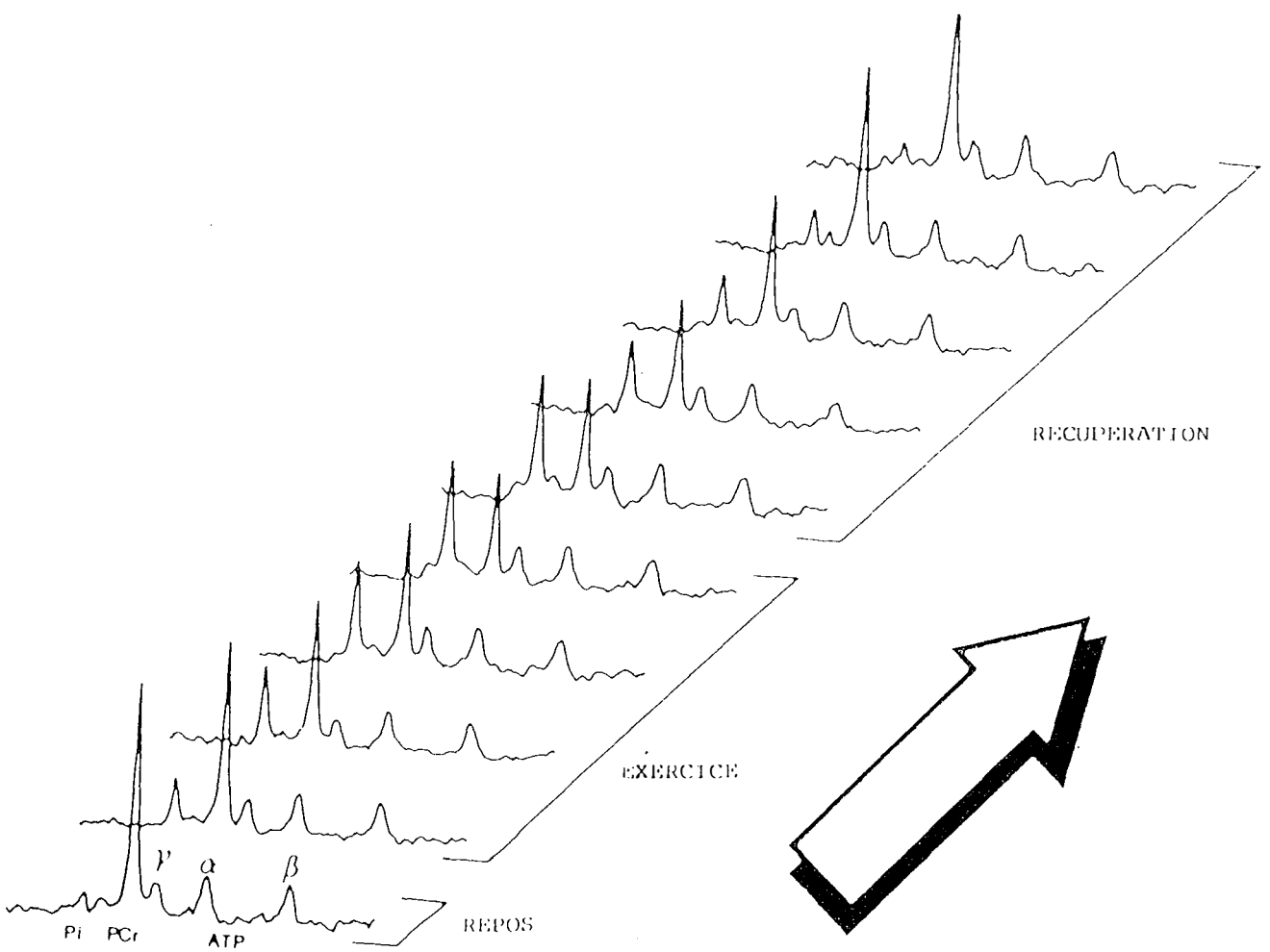
Une explication possible est la transformation de fibres à prépondérance glycolytique en fibres à prédominance oxydative. Nous avons déjà mentionné l'existence de telles modifications dans l'hypothyroïdie au paragraphe consacré à l'étude du pH. Or, il a été prouvé par MEYER et al. (147) qu'il se produisait une augmentation du rapport PCr/Pi dans les fibres rapides (prédominantes dans le biceps) et une diminution de ce rapport dans les fibres lentes (prédominance dans le soleus). Dans cette étude spectroscopique, le rapport PCr/(PCr + Pi + ATP) est également plus élevé dans les fibres glycolytiques tandis que le rapport Pi/(PCr + Pi + ATP) est plus bas dans les muscles riches en ce type de fibres. Ces données sont également confirmées par les dosages biochimiques. Cette étude démontre enfin que, dans les fibres rapides, le pool de créatine est presque entièrement phosphorylé, ce qui n'est pas le cas dans les fibres lentes. Ainsi, dans l'hypothyroïdie, la transformation de fibres du type II en fibres du type I (peut être fonctionnelle avant d'être consacrée histologiquement) se traduit-elle, par une diminution des rapports PCr/Pi et PCr/(PCr + Pi) au repos.

Un taux anormalement bas du rapport PCr/Pi au repos peut aussi refléter un dysfonctionnement mitochondrial primitif ou secondaire (3, 172) traduisant la souffrance du myocyte. Plusieurs études ont, par le passé, relevé une altération des capacités enzymatiques mitochondriales, par exemple, une diminution de l'activité malate deshydrogénase dans les différents types de fibres musculaires (12), une diminution de la cytochrome oxydase à l'avenant (119, 159), une diminution du contenu protéique mitochondrial et des activités enzymatiques spécifiquement mitochondriales de l'alpha glycérophosphate deshydrogénase et de la succinate deshydrogénase (112) étayant cette hypothèse.

Là encore, l'explication est peut être à rechercher dans la résultante des 2 phénomènes, l'un pouvant être la conséquence de l'autre. En effet, on peut très bien imaginer que des altérations enzymatiques secondaires à l'hypothyroïdie induisent à leur tour la modification du phénotype myocytaire, les fibres du type II se transformant progressivement, à l'occasion d'un continum évolutif initialement purement fonctionnel, puis secondairement organicisé, en fibres de type I, qui, dans une conception finaliste, seraient plus adaptées à l'habitus hypothyroïdien.

A L'EFFORT (figures 7 et 8)

Nous assisterons à une déplétion particulièrement importante de la PCr durant les deux premières minutes de l'excitation (division par 3 à 4 du rapport PCr/Pi) dans les 4 groupes de muridés. Il y a libération concomitante de Pi au cours de cette réaction estimée stoechiométrique (5, 127, 146) (figure 22)



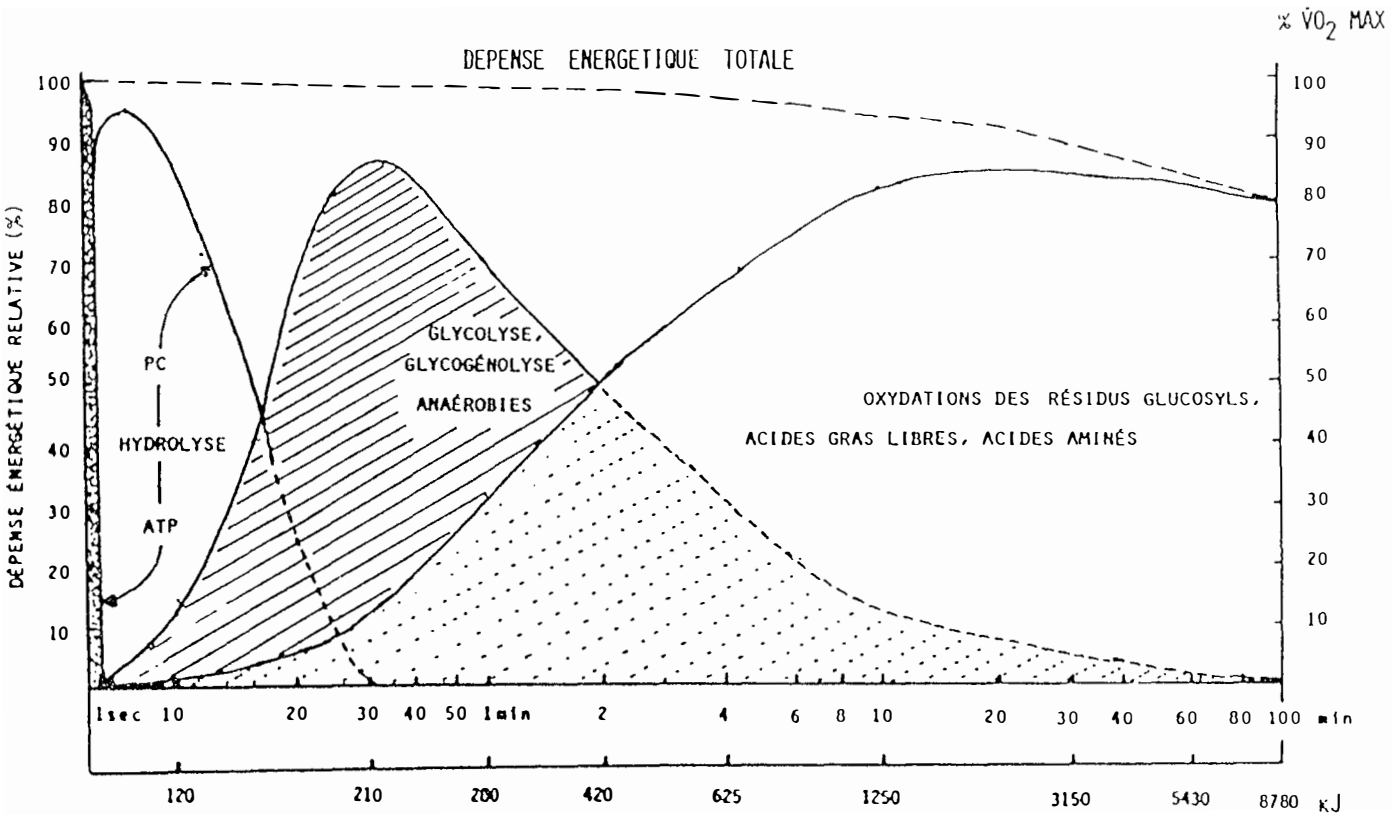


Figure 22

Evolution de la dépense énergétique totale et mobilisation des principales sources d'énergie au cours d'un effort musculaire (1 Met équivaut à 70 $J.Kg^{-1}.min^{-1}$)

d'après POORTMANS (170)

Il a été démontré que, pour un travail donné, d'intensité modérée, les contenus en PCr et en Pi se stabilisent durant la contraction en définissant un rapport Pi/PCr qui est en relation directe avec l'intensité du travail développé (4, 39, 41, 127) et la consommation d'oxygène. elle même fixée par la P02 (110).

L'hydrolyse de la PCr est donc la source principale de Pi libérés au début des activités contractiles. Or, comme les Pi sont nécessaires pour activer la glycogénolyse et la glycolyse, le relargage même de Pi pourrait être une fonction parallèle importante de l'hydrolyse de la PCr (146). Une confirmation de cette hypothèse a été apportée par des études de spectroscopie RMN. Celles-ci objectivent un taux basal modéré de Pi (2-3 mM) dans des muscles à activité glycogénolytique (146, 147) comparé aux muscles à activité oxydative. Il en découle qu'un taux de PCr plus élevé et de Pi plus bas dans les fibres glycolytiques entraîne lors de la contraction musculaire des augmentations relatives du taux des Pi plus importantes que dans les fibres oxydatives permettant un volant régulateur plus précis de la glycolyse et de la glycogénolyse dans les fibres rapides. En effet, la phosphorylase ainsi que la phosphofructokinase sont sensibles à des variations de Pi de l'ordre de la millimole (146), donc très faibles.

Le flux PCr -> ATP s'élève quand le travail imposé au muscle augmente (passant par exemple de 2,5 mM/s pour un coeur arrêté à des chiffres supérieurs à 10 mM/s lors d'un travail intense) (23, 140, 161). Dans tous les cas, le transfert de phosphate de la PCr sur l'ADP est supérieur à la formation à partir du métabolisme énergétique de l'ATP (évalué par le transfert de Pi vers le phosphore en position γ de l'ATP) qui est égal au maximum à 2 mM/s (23, 121, 226).

Lors d'une hypoxie le débit PCr -> ATP s'abaisse ce qui a pu être incriminé dans les phénomènes de défaillance contractile (22)

GYULAI et coll. (95) ont démontré, par l'adjonction de substrats soigneusement choisis (ATP, Cr, PCr, Pi) à des préparations de mitochondries, que :

$$\log PCr/Pi = f(ATPase)$$ et que

$$\log \frac{ATP}{ADP \times Pi} = PCr \times Kobs / Cr \times Pi$$

et confirment les travaux de CHANCE et WILLIAMS (43) qui ont montré que la production d'ATP par la voie du métabolisme oxydatif du glucose et l'action de l'ATPase sont liés par une hyperbole du type MICHAELIS - MENTEN. L'ADP est l'élément chimique controlant le système. L'équation de la courbe est la suivante :

$$V / Vm = 1 [1 + (Km / ADP)]$$

où V = vitesse de réaction et
Vm = vitesse maximale

Km est la concentration de substrat pour une vitesse d'activité égale à la moitié de Vm (= constante de Michaelis - Menten).

Démontrant que l'ADP est proportionnelle au rapport Pi/PCr, ces mêmes auteurs modifient l'équation précédente qui devient :

$$V / Vm = 1 [1 + (0,53 / (Pi/PCr)] \text{ et } PP = ATP \times (PCR / Pi^{2})$$

avec PP = potentiel de phosphorylation ou quotient de phosphorylation.

L'hyperbole de Michaelis-Menten traduit l'adaptation du métabolisme oxydatif :

- si la vitesse de demande métabolique permet aux cellules de travailler dans la partie basse de la courbe, lorsque le raport V/Vm est bas et le rapport PCr/Pi élevé, une perturbation métabolique sera corrigée par une faible variation des concentrations d'ADP

- inversement, si V/Vm est proche de 1 et PCr/Pi bas, une petite variation des phénomènes métaboliques aboutit rapidement à une perte de contrôle suivie d'une rupture de l'homéostasie de l'ATP.

Par ailleurs, le rapport PCr/Pi joue également un rôle dans la régulation de la respiration mitochondriale. En effet, dès 1961, KLINGENBERG a suggéré que le quotient de phosphorylation [ATP] / [ADP] x [Pi] présentait un rôle régulateur dans les métabolismes respiratoires mitochondriaux (124).

Ultérieurement, CHANCE a démontré que la concentration d'ADP était en relation avec le rapport PCr/Pi (en fait inversement proportionnelle)

$$ADP = \frac{\alpha\ Pi}{PCr}$$

Or, l'ADP, par le biais d'un mécanisme de rétrocontrôle (feed back) module la synthèse de l'ATP au sein de la mitochondrie (43). Ceci confirme le rôle indirect de contrôle du métabolisme oxydatif par le quotien PCr/Pi, même si le rôle clé semble être tenu par l'ADP.

Ces considérations nous amènent à commenter l'évolution de ce rapport chez les rats hypothyroïdiens. Inférieur par comparaison aux témoins pendant toute la phase d'excitation, ce rapport diminue parallèlement dans les 4 groupes de rats. La différence entre témoins et rongeurs traités n'est significative que pendant les 4 premières minutes environ.

Cette évolution a été retrouvée dans l'étude de TAYLOR et al.. (205) ainsi qu'avec des décroissances moins brutales chez ARGOV (5). Les différences observées par ce dernier sont cependant plus significatives que dans notre étude, mais il ne faut pas oublier qu'il utilise pour ses expériences des rats thyroïdectomisés, présentant une hypothyroïdie de 2 mois, donc plus profonde. Notons enfin une discordance avec les études plus anciennes de WILES et al.. (214) mettant en évidence une moindre déplétion de la PCr chez les hypothyroïdiens par rapport aux témoins (mais en ischémie).

Les modifications observées à ce stade dans l'hypothyroïdie peuvent être imputées à deux mécanismes :

- soit à la transformation de fibres musculaires du type II en fibres du type I comme cela a déjà été mentionné pour le repos. Partant de valeurs plus basses au repos, les muscles myxoedémateux suivent une décroissance parallèle à la décroissance habituelle, mais en demeurant toujours en deçà des normes.

- soit à un trouble du métabolisme énergétique (inertie liée à l'hypothyroïdie, mitochondries moins efficaces) compte tenu d'une pente de décroissance sensiblement plus abrupte dans les groupes de rats hypothyroïdiens,

amenant un rapport non significativement inférieur à des valeurs significativement plus basses que chez les témoins. durant les premières minutes de l'excitation.

LA RECUPERATION

La récupération s'effectue en deux temps : une phase initiale rapide dont la répercussion est sensible sur le pH après une minute de récupération, et une phase plus lente (figures 13, 14, 15). La reconstitution de la PCr à partir de créatine et de Pi produit des ions H^+ (à l'opposé de l'hydrolyse de PCr qui en consomme) d'où une discrète acidification initiale (127, 146, 148).

La plupart des études s'accordent pour affirmer la rapidité habituelle de la régénération de la PCr. Ainsi. 50 % de la PCr hydrolysée seraient reconstitués en 1 minute environ (204) et cette resynthèse est si rapide que pour bien l'analyser, des temps d'accumulation spectrale de 14 secondes seulement sont nécessaires (ce qui fait malheureusement disparaître le pic Pi dans le bruit de fond) (127). La diminution des Pi serait encore plus rapide (avec une demi-vie d'environ 30 secondes (172).

Il faut savoir par ailleurs que différents facteurs interviennent dans la régénération de la PCr, notamment le pH pour ARNOLD et al.. (7), mais pas pour KUSHMERICK et MEYER (127) et, au delà d'un certain seuil, l'intensité de l'exercice physique qui a précédé (183) et donc de ce fait la déplétion en PCr (5). Cependant, ces diverses observations suscitent d'avantage de polémique qu'elles ne procurent de conclusions incontournables concernant les facteurs intracellulaires qui ajustent la production d'énergie à la puissance développée. A ce jour, il n'est pas possible d'attribuer à l'ADP la qualité de régulateur (183).

Dans notre étude, les valeurs de PCr/Pi et PCR/(PCr + Pi) sont très significativement plus basses dans les groupes hypothyroïdiens. Par ailleurs, si les rats normaux ont récupéré en 4 à 5 minutes environ, au terme des 10 minutes fixées pour la récupération, les valeurs initiales ne sont toujours pas recouvrées dans les groupes intoxiqués.

Le comportement différent des muscles hypothyroïdiens confirme les résultats d'ARGOV et al.. (5), mais pas ceux de TAYLOR et al.. (205) qui présentent des valeurs de demi-récupération pour PCr et de récupération pour Pi normales.

La récupération de la PCr dépend uniquement des phosphorylations oxydatives (172), d'où son rôle d'indicateur, de témoin des capacités des fonctions aérobies musculaires.

Dans le muscle hypothyroïdien, la diminution du rapport PCr/Pi pourrait donc traduire des anomalies bioénergétiques secondaires à l'altération des métabolismes oxydatifs. Leur situation mitochondriale impliquerait donc un dysfonctionnement de cette organelle intramyocytaire.

Or, il s'avère que le profil spectroscopique observé est le même que dans les myopathies mitochondriales.

les myopathies mitonchondriales constituent un groupe d'altérations musculaires rare, caractérisé, comme dans la myopathie hypothyroïdienne, par une faiblesse musculaire, et une intolérance à l'effort (encore que dans cette dernière entité, des résultats discordants aient été rapportés). Ce concept a été décrit pour la première fois par LUFT et al., en 1962 (133) et peut revêtir différents aspects en fonction de l'atteinte enzymatique originelle (56, 99).

Les premières études, principalement ultrastructurales, ont permis à SHY et à GONZALES de découvrir plusieurs anomalies mitochondriales et de définir de nouveaux syndromes à partir de ces données ultrastructurales (90, 194, 195, 196). Cependant, il va de soi que les modifications ultrastructurales peuvent être aspécifiques ou alors demeurer absentes en présence d'une authentique atteinte d'ordre purement fonctionnel [comme dans les déficits en CPT ou en carnitine par exemple (56)].

La présentation clinique est variable et pléiomorphe, pouvant même emprunter une symptomatologie d'hypermétabolisme non thyroïdien (par analogie avec la maladie de Basedow) dans le cadre nosologique de la maladie de Luft (133). Des pathologies aussi diverses que le syndrome facioscapulohuméral, l'ophtalmoplégie extrinsèque progressive et la paralysie flasque périodique avec myoglobinurie font partie de cette classe d'affections (56).

Des anomalies biologiques sont fréquemment retrouvées (56).

- augmentation non obligatoire des taux sanguins d'acide lactique, d'acide pyruvique, d'alanine

- anomalies enzymatiques mitochondriales : déficit en :
  - pyruvate deshydrogénase (24, 179)
  - pyruvate carboxylase (54)
  - cytochromes (152, 201, 210, 217)
  - phosphorylases (134)
  - carnitine palmityl transférase (14, 58, 129, 175).

Les anomalies morphologiques sont suspectées dès le stade de la microscopie optique, grâce à l'utilisation des colorations histochimiques. Cependant, le recours à l'étude ultrastructurale est nécessaire pour une analyse plus fine (66). Les principales lésions décrites sont :

- soit une accumulation de mitochondries normales, souvent de localisation périnucléaire, comme dans la paralysie périodique hyperkaliémique (66).

- soit le développement de mitochondries géantes et difformes, qui présentent souvent une disposition anormale des crêtes, qui peuvent prendre un aspect tubulaire. On a décrit ce phénomène dans les états hypermétaboliques non thyroïdiens (57, 66, 133).

- soit la présence de mitochondries affectées d'une prolifération de leurs crêtes au point d'être remplies de telles membranes d'aspect digital (56, 66).

- soit enfin, l'existence d'inclusions mitochondriales (57, 66, 133). Ce sont généralement des inclusions cristallines. La structure la plus banale est une forme rectangulaire constituée de 4 lignes osmiophiles d'égale longueur très proches les unes des autres. D'autres formations quadrangulaires ou arrondies ont été signalées dans différentes affections.

Les données spectroscopiques en ^{31}P RMN sont d'acquisition plus récente. Elles permettent de séparer les patients atteints de myopathie mitochondriale en 3 groupes (172).

Les caractéristiques de chacun de ces 3 groupes sont :

• la réduction du taux de resynthèse de la phosphocréatine, sans doute en rapport avec une synthèse d'ATP ralentie (171). La restauration du rapport PCr/Pi peut alors s'avérer excessivement longue, jusqu'à une demi heure (72)

• une augmentation significative du taux des Pi au repos, avec une resynthèse normale de la PCr pendant la récupération (83)

• une absence d'anomalie à la spectroscopie. Dans ce cas, la "normalité" peut être liée cependant à un faible pourcentage de mitochondries atteintes dans la fraction de muscle étudiée, l'affection pouvant toucher les muscles de manière hétérogène.

L'allongement de la durée de récupération du rapport PCr/Pi est donc une des caractéristiques possibles des myopathies mitochondriales. ARGOV (3) l'observe chez 9 patients sur 12 atteints de myopathie mitochondriale (dont un nécessitant plus d'un quart d'heure pour régénérer sa PCr).

Dans notre étude, tous les rats hypothyroïdiens, y compris ceux dont l'intoxication par le PTU n'excède pas 2 semaines, présentent un retard tel dans la régénération de la PCr que 10 minutes d'observation en spectroscopie RMN sont insuffisantes pour assister à une restitution complète. Leur comportement est donc là encore très évocateur d'une atteinte mitochondriale.

C'est pourquoi, si nous nous référons aux conclusions d'ARGOV (3), dégageant un profil RMN type pouvant définir une myopathie mitochondriale, à savoir l'association d'un rapport PCr/Pi abaissé au repos, d'un rapport travail sur déplétion abaissé et d'une restauration de la phosphocréatine ralentie lors de la récupération, nous pouvons affirmer que la myopathie hypothyroïdienne est bel et bien une myopathie mitochondriale. Cette conclusion est corroborée par l'existence d'anomalies ultrastructurales des mitochondries dans la myopathie hypothyroïdienne.

Ainsi. des anomalies diverses (tout comme dans les myopathies mitochondriales) ont-elles été décrites :

• augmentation du nombre des mitochondries (94, 119, 143)

• anomalies morphologiques (119, 143)

• inclusions anormales (66, 143, 160) s'ajoutant aux modifications de type de fibres déjà décrites et à des phénomènes de centralisation nucléaire (144).

Les modifications du contenu enzymatique et protéique des mitochondries dont nous avons déjà fait part antérieurement, et l'impact des hormones thyroïdiennes sur les mitochondries constituent un argument supplémentaire (26, 200, 221). On sait d'ailleurs depuis les travaux de STERLING (202) qu'un récepteur mitochondrial à la T3 régule l'activité enzymatique respiratoire musculaire.

Ainsi, par le truchement de plusieurs techniques complémentaires nous est-il possible de suggérer que la myopathie hypothyroïdienne est le fruit d'un dysfonctionnement des activités respiratoires mitochondriales.

Nous pouvons même ajouter que les répercussions de cette altération métabolique sont excessivement précoces puisque les anomalies de l'hydrolyse de la phosphocréatine que nous observons après 2 semaines déjà de traitement par PTU pourraient confirmer la diminution de 25 % du cytochrome C (transporteur d'électrons clé dans la chaîne respiratoire mitochondriale (130)) observée déjà une semaine après thyroïdectomie chez des rats dans l'étude de JANSSEN et al.. (112).

5.2.2.3. *Rapport PCr/ATP*

Dans ce rapport, nous retrouvons :

• d'une part la PCr dont nous savons qu'elle est hydrolysée pendant l'effort afin de maintenir constante la concentration en ATP.

• D'autre part. l'ATP qui dans ce rapport est en fait le pic d'ATP ß.

En effet, en spectroscopie RMN, les pics γ et α de l'ATP ne sont pas purs mais relèvent aussi de la présence des groupements phosphates en ß et α de l'ADP.

Dans le type d'exercice musculaire imposé à nos rats, aérobie, non tétanique, nettement sous-maximal nous devrions effectivement conserver la concentration d'ATP initiale durant toute l'expérience (10) telle qu'elle est représentée sur la figure 23

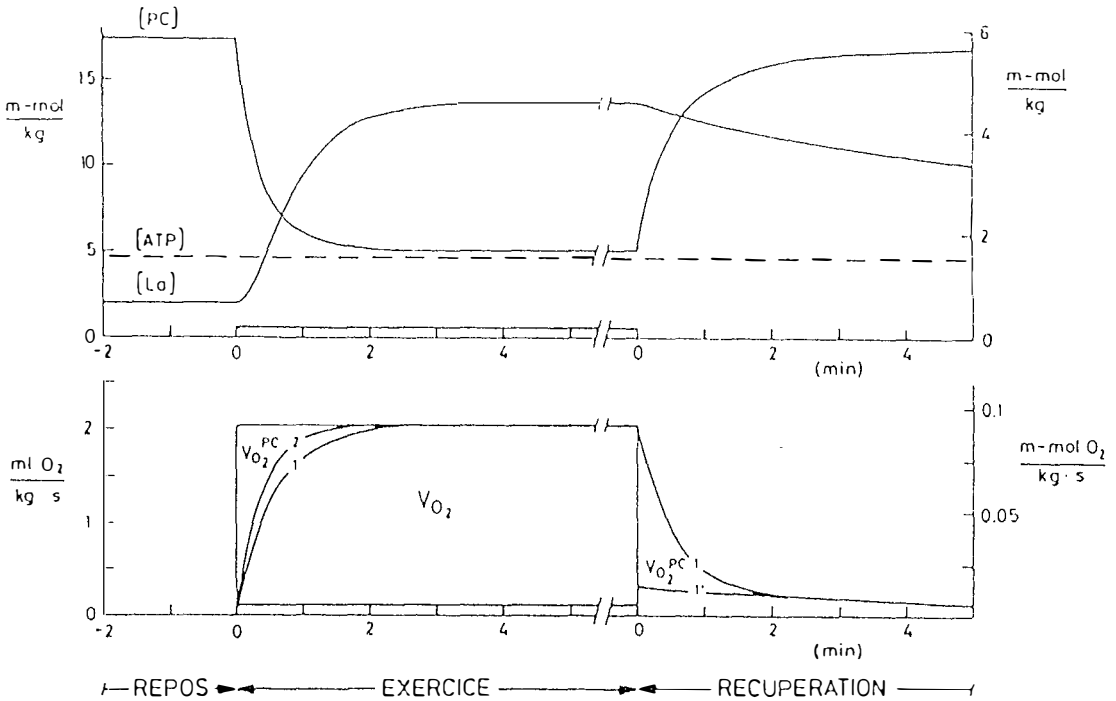


Figure 23

Evolution des concenrrations d'ATP, de PCr et de lactates (en mmoles/kg de muscles frais) au repos, durant un exercice aérobie de bonne intensité et pendant la récupération.

(d'après 60)

Ce n'est que pour des exercices intenses ou des contractions prolongées que l'état stationnaire de la PCr et des Pi (cf supra) ne pourra être maintenu et que sera constatée une diminution des concentrations intracellulaires d'ATP (4, 206). Celle-ci peut alors être considérable (jusqu'à 50 % et plus en cas d'exercice très sévère) sans aumgentation remarquable de l'ADP et avec conservation du phosphore total mesurable (172).

Le rapport PCr/ATP est donc un bon reflet du métabolisme anaérobie.

Dans notre étude, le groupe témoin présente des valeurs de repos plus basses que les 3 groupes traités. Cependant, la différence n'est significative qu'avec le groupe de rats traités par PTU pendant les 4 semaines précédant l'expérimentation ($p < 0.02$).

Les valeurs observées sont voisines de celles mesurées par TAYLOR (205) mais plus basses que celles de l'étude d'ARGOV (5) concernant les hypothyroïdies et celles du même auteur concernant les myopathies mitochondriales (3).

Groupe / **Etude**	**Témoins**	**Patients**			
ARGOV (1987) (3)	5,6 ± 0,7	humains		5,1	myopathies mitochondriales
ARGOV (1988) (5)	5,5 ± 0,7	humains		5,1	hypothyroïdie
TAYLOR (1989) (205)	3,19 ± 0,15	humains		3,33 ± 0,24	hypothyroïdie
présente étude (1990)	3,11 ± 0,34	rats	2S	3,11 ± 0,28	
			4S	3,49 ± 0,33	hypothyroïdie
			6S	3,25 ± 0,24	

Tableau 7

Valeurs du raport PCr/ATP dans différentes études de la littérature et dans la présente étude.

Les valeurs demeurent plus importantes durant toute l'expérience dans le groupe HYPO 4S. Les témoins présentent les valeurs les plus basses essentiellement pendant la récupération. Après une décroissance initiale durant 4 minutes environ, les valeurs réaugmentent à partir de la 6ème minute de l'exercice. L'écart entre le groupe HYPO 4S et les 3 autres groupes, ainsi que l'écart entre le groupe témoin et les autres groupes s'intensifient au fur et à mesure de la récupération.

Cette évolution traduit en fait 2 phénomènes :

• d'une part l'hydrolyse brutale et importante de la PCr prédominant au tout début de l'excitation

• d'autre part, compte tenu d'un état de stabilisation en plateau des concentrations en PCr (steady state) qui, dans notre étude, semble même légérement décroissant (poursuite d'une discrète consommation de la PCr au mois jusqu'à la 8ème minute de l'exercice), une consommation, modérée certes, mais bien réélle de l'ATP, prédominant dans le groupe 4S.

Par ailleurs, durant la récupération, la régénération plus lente de la PCr dans les groupes hypothyroïdiens ne peut, bien évidememment, rendre compte de la réascension plus importante du rapport PCr/ATP dans ces groupes, bien au contraire.

On peut considérer que les rats témoins ont recouvré la valeur de repos dès la 6ème minute de récupération, ce qui est compatible avec les temps de régénération de la PCr (vers la 4-5ème minute).

En revanche, des valeurs proches des valeurs de repos, voire nettement supérieures (groupe HYPO 4S) du rapport PCr/ATP, dans des populations de rats qui sont encore loin d'avoir régénéré toute leur PCr (cf supra), ne peut s'expliquer que pour une ATP encore basse et non entièrement régénérée.

Nos observations sont donc en contradiction avec les travaux d'ARGOV et al. (5). En effet, ceux-ci ne décrivent pas de différence significative pour les concentrations d'ATP entre les groupes hypothyroïdiens et témoins.

Elles vérifient par contre les résultats de l'étude de TAYLOR et al.. (205) qui se réfèrent à tort aux travaux de WILES et al.. (214).

Dans cette étude plus ancienne, utilisant des biopsies musculaires, les auteurs font en fait part d'un turnover de l'ATP réduit en cas d'hypothyroïdie. Cette moindre consommation de l'ATP évolue de pair dans ce cas avec une hydrolyse réduite de la PCr, ce qui n'est pas davantage observé dans notre étude.

Cependant, la comparaison entre les 2 études est difficile, compte tenu de l'utilisation d'une fréquence de stimulation 30 fois supérieure par WILES, ce qui génère des conditions de travail franchement anaérobies. Et l'on sait que lors d'une hypoxie, le débit de la réaction nette PCr -> ATP s'abaisse, ce qui a pu être considéré comme la source de défaillance contractile (22).

L'interprétation de cette diminution de l'ATP est délicate. En effet, si la consommation accrue de l'ATP lors de l'hypothyroïdie semble possible et même probable, compte tenu de l'altération à la fois des métabolismes aérobies et anaérobies, dans cette affection, l'interprétation de la prépondérance de ce processus dans le groupe HYPO 4S, c'est à dire le groupe d'intoxication intermédiaire, est plus ardue.

Une explication semble cependant satisfaisante :

• à partir d'un exercice sévère, une déplétion d'ATP peut être observée (172). Dans un muscle défaillant, notamment à l'échelon des métabolismes oxydatifs, source de régénération d'ATP, une déplétion d'ATP pourra être constatée pour des exercices moindres. C'est ce qui est mis en évidence pour les muscles hypothyroïdiens. Cependant, ces variations sont modestes car portant sur des petites valeurs en RMN. L'ATP correspond en moyenne au 1/3 de la PCr. Ainsi, de petites modifications au dénominateur peuvent amplifier les fluctuations du rapport. Une petite diminution de l'ATP entre les groupes HYPO 2S et 4S peut ainsi accroître de manière significative le rapport PCr/ATP en faveur du groupe le plus anciennement intoxiqué.

En présence d'une hypothyroïdie plus ancienne, il est possible que les variations d'ATP soient moins sensibles que ne l'est le ralentissement de la régénération de la PCr et l'on assistera à une diminution du rapport dans le groupe HYPO 6S.

Donc, si on étudie la variation du rapport PCr/ATP non plus en fonction du temps, mais en fonction de la profondeur de l'hypothyroïdie, on peut schématiquement subdiviser l'évolution en 2 phases (figure24)

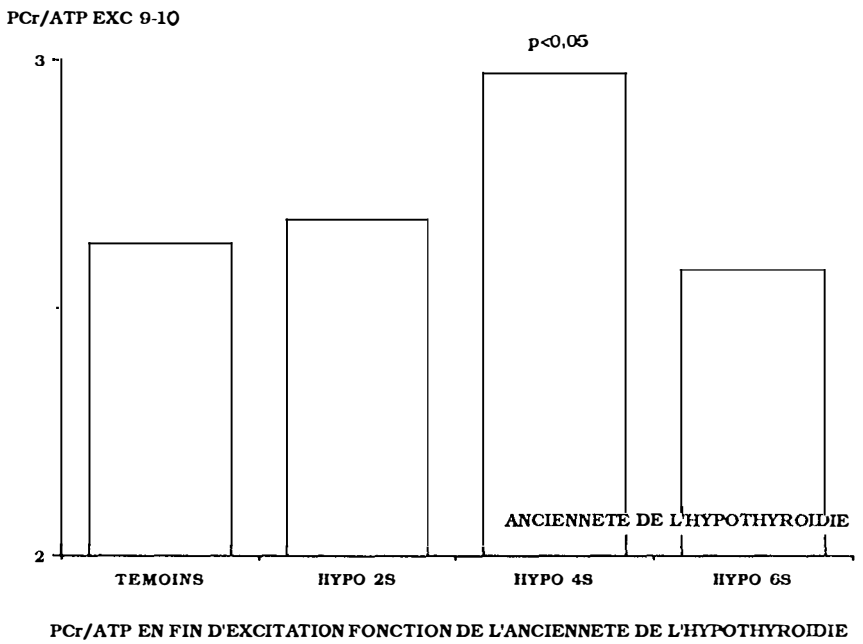


Figure 24

Evolution du rapport PCr/ATP à la fin de l'excitation en fonction de l'ancienneté de l'hypothyroïdie.

• une phase où les variations (ascendantes) du rapport sont imputables à la baisse de l'ATP

• une phase où les modifications du rapport PCr/ATP, en dépit éventuellement d'un ATP encore décroissant (mais très modestement) sont à porter au crédit (ou au "débit") du ralentissement important de la régénération de la PCr.

Cette double contreperformance : chute de l'ATP et régénération effondrée de la PCr, lors de la récupération peut fort bien être le témoin de dysfonctionnements métaboliques complexes comme ceux engendrés par l'hypothyroïdie.

5.2.2.4. *Rapport Pi/ATP*

Ce rapport peut être considéré comme le pendant du précédent. Son évolution suit un schéma sensiblement inverse de celui du rapport PCr/ATP, ce qui peut paraître logique si l'on considère l'équation

PCr -> Cr + Pi.

Si nous comparons, au repos, les valeurs de Pi/ATP dans les différents groupes, nous constatons une augmentation significative chez les hypothyroïdiens par rapport au groupe témoin. Cette augmentation peut être liée soit à une production accrue de Pi, soit à une chute de l'ATP. Si nous nous référons aux travaux de WILES (214), qui estime à 25 % la perte d'ATP chez les rats hypothyroïdiens par rapport aux rats témoins, nous sommes obligés d'imputer 33 % de l'augmentation du rapport Pi/ATP à la baisse du dénominateur. La valeur du ratio chez les hypothyroïdiens, par rapport aux témoins, si l'ATP chute bel et bien de 25 %, devrait être par conséquent égal à :

$$R_{HT} = R_T + \frac{33 \times R_T}{100}$$

avec R_{HT} = rapport Pi/ATP chez les hypothyroïdiens
R_T = rapport Pi/ATP chez les témoins (0,22)

soit :

$$0,22 + (0,22 \times 0,33) = 0,29$$

Or, cette valeur est justement celle que nous trouvons pour l'ensemble de nos rats hypothyroïdiens. Nous sommes donc obligés de discuter de la réalité de l'augmentation des Pi.

Si nous appliquons le même raisonnement au rapport PCr/ATP. nous devrions trouver des rapports de l'ordre de 4,13 dans les groupes hypothyroïdiens, ce qui est loin d'être le cas, les valeurs les plus élevées étant de 3,49. Ceci implique une baisse concomitante de la PCr d'environ 18 %.

Si nous avons considéré dans le chapitre 5.2.2.2. que l'hypothyroïdie induisait une déplétion en PCr au repos, nous ne l'avions pas quantifiée jusqu'à présent.

Or, si nous comparons les rapports PCr/PI de repos entre les groupes intoxiqués et le groupe témoin, nous constatons des valeurs plus élevées de 35 % chez ce dernier. Il existe donc forcément outre la diminution de la PCr, une augmentation des Pi concomitante. Il en résulte que l'augmentation du rapport Pi/ATP n'est pas uniquement due à une diminution de l'ATP mais aussi à une libération accrue de Pi. Une deuxième conséquence est que la diminution de l'ATP dans nos groupes de rats hypothyroïdiens est bien moindre au repos que celle constatée par WILES et al.. (214) pour des hypothyroïdies, il est vrai, plus anciennes. Intuitivement. cela nous semble probable car il nous parait difficilement concevable qu'une chute de l'ATP d'un quart de sa valeur initiale puisse être consacrée par 15 jours d'intoxication par du PTU et qu'ensuite, cette baisse se stabilise à ce niveau.

L'évolution pendant l'excitation traduit l'hydrolyse de la phosphocréatine, d'où l'aspect ascendant du rapport Pi/ATP. Au contraire, durant la récupération, ce rapport sera décroissant, compte tenu de la régénération de la PCr.

Cependant, si l'on conçoit aisément que le rapport Pi/ATP le plus bas soit présent dans le groupe de rats témoins (du fait d'une moindre production de Pi en raison d'une hydrolyse de la PCr moins intense et d'une régénération plus rapide), on comprend moins bien pourquoi les valeurs les plus élevées sont observées dans le

groupe HYPO 4S. En effet, le ralentissement de la régénération de la PCr dans le groupe HYPO 6S devrait conduire à la persistance d'un taux de Pi plus important et donc à un rapport Pi/ATP plus élevé.

En fait, si nous considérons les variations des groupes HYPO 4S et 6S, nous constatons qu'elles ne sont pas significativement différentes, ce qui est étonnant compte tenu de la différence significative entre ces 2 groupes des variations du rapport PCr/ATP. L'existence d'un processus de différenciation des fibres glycolytiques en fibres à potentiel oxydatif présentant dès le départ, au repos, un rapport PCr/Pi diminué (147) (ce qui correspond entre autre à une augmentation de Pi) tend à minimiser les différences entres les groupes possédant déjà une augmentation sensible des fibres lentes oxydatives. Ce phénomène pourait donc provoquer un nivellement des valeurs du rapport Pi/ATP. Par ailleurs, une partie des Pi pourrait se fixer et ne plus être mesurable par la technique spectroscopique.

Nos résultats sont corroborés par ceux de TAYLOR et al., (205) qui constatent une très nette augmentation du rapport Pi/ATP dans le muscle myxoedémateux. Ces auteurs attribuent ces modifications (ainsi que nous l'avons constaté dans cette étude) à l'augmentation d'une part des Pi et d'autre part à la diminution de l'ATP. D'après l'ensemble de leurs résultats et en se référant aux travaux de WILES (214), ils concluent à une baisse de moitié, au repos, du potentiel de phosphorylation [ATP / (ADP x Pi)] en cas d'hypothyroïdie.

5.2.2.5. *Rapport PDE/ATP*

Nous constatons une augmentation significative du rapport PDE/ATP en cas d'hypothyroïdie.

Au repos, le groupe HYPO 6S présente significativement plus de PDE que les groupes témoin et HYPO 2S.

Ensuite, le groupe témoin (et plus rarement le groupe HYPO 2S) présentera une différence significative du rapport vis-à-vis des rats hypothyroïdiens des 2 autres groupes.

Le comportement des groupes HYPO 4S et HYPO 6S n'est pas différent du point de vue statistique.

La production de PDE dans les muscles myxoedémateux a été relevée dans les 2 études RMN (5, 205) mais sans que les auteurs insistent sur ce phénomène. Un pic important de PDE, régressif sous hormonothérapie substitutive a été décrit par ILES et al., (172), chez un patient hypothyroïdien. RADDA et TAYLOR (172) ont également décrit un pic de PDE lors de l'étude du fléchisseur superficiel des doigts chez 5 sur 6 patients hypothyroïdiens. Ils ont quantifié ces PDE : 2,2 mmole/kg de poids sec pour une normale inférieure à 0,7 mmoles.

Il ne semble donc pas que le pic de PDE puisse être attribué à un effet toxique direct du PTU sur le muscle. Il est bel et bien le stigmate de l'hypothyroïdie puisqu'on le retrouve dans des myxoedèmes d'étiologies différentes.

5.2.2.5.1. Que représentent les phosphodiesters (PDE) ?

Dès les premières études en spectroscopie RMN, des pics correspondant à des métabolites jusque là inconnus étaient mis en évidence en 1976 :

- par BURT et al., (34) y compris chez des poussins dystrophiques
- par DAWSON et al., (48) dans des gastrocnémiens de batraciens

Ils ont été attribués secondairement à des PDE, notamment à la glycérophosphorylcholine (33).

Des études chromatographiques antérieures faisaient déjà état de tels composés et ROBERTS et LOWE en 1954 avaient identifié un autre PDE : la l-sérine éthanolamine phosphodiester (SEP) en étudiant les muscles de tortue (178).

Il y a concordance entre les concentrations de ces PDE et l'importance des pics observés par la RMN (48).

5.2.2.5.2. Que signifie un pic de PDE en pathologie ?

Depuis la découverte de la SEP en 1954 (178), plusieurs études ont mis en évidence une augmentation de cette substance dans des dystrophies musculaires aviaires (34, 38, 70).

Un pic de PDE en étude RMN a été visualisé lors de l'étude de l'avant-bras d'un patient atteint de maladie de Duchenne dès 1982 (155).

Depuis, la connaissance spectroscopique de ce type d'affection s'est approfondie, et, contrairement à ce qui avait été constaté lors d'études plus anciennes (37), une augmentation des PDE a été constatée à plusieurs reprises dans des jambes de patients atteints de cette redoutable myopathie (35), en particulier dans les stades les plus avancés de la maladie. Le même type d'observation a été réalisé sur les muscles de l'avant-bras (70, 155).

La signification de ces PDE n'est pas encore claire. En effet, compte tenu de l'existence de plusieurs types de PDE, leur rôle respectif n'est peut être pas univoque, ce qui pourrait rendre compte des conclusions apparemment contradictoires entre les études attribuant un rôle protecteur à un taux élevé de PDE et un rôle néfaste à un taux faible ou à l'absence de PDE (il s'agit alors en général de glycérol-3-phosphorylcholine (GPC)) (37, 70) et les expérimentations arguant les phénomènes inverses (169, 172).

Mise à part la signification de déchet, le principal rôle attribué aux PDE est une fonction de contrôle membranaire (35).

HITZIG et al., (104) les assimilent à des produits de dégradation des phospholipides qui pourraient avoir un rôle modulateur de l'activité des phospholipases membranaires.

5.2.2.5.3. Importance des PDE dans la myopathie hypothyroïdienne

A l'instar des autres études RMN portant sur le muscle myxoedémateux, nous avons constaté une augmentation significative des PDE par rapport à la

population témoin. Cette élévation est hautement significative ($p < 0.001$) essentiellement au cours de l'effort et de la récupération. chez tous les rats intoxiqués. y compris ceux qui le sont depuis la période la plus récente . Au repos, la différence n'est nette que pour les rats les plus intoxiqués (HYPO 6S).

Nous pensons que cette anomalie est un stigmate important dans le processus d'altération myogène secondaire à la carence hormonale.

En effet, il s'agit d'un marqueur précoce (présent déjà dans le groupe HYPO 2S). sensible (à l'effort $p < 0.001$). malheureusement non spécifique (puisque souvent décrit dans les dystrophies musculaires, mais aussi augmenté avec l'âge) (35).

Par ailleurs. il revêt un intérêt physiopathologique certain puisqu'on a décrit des modifications des PDE en fonction du type de fibre musculaire étudié. La transformation des fibres de type II en fibres de type I s'accompagnerait d'une production de PDE (36). Or, nous savons déjà que l'hypothyroïdie induit justement cette sorte de changement. Il se pourrait donc que nous soyons en présence d'un marqueur supplémentaire de la nouvelle différenciation des myocytes.

Par ailleurs, la signification exacte des PDE étant inconnue, même en ce qui concerne les dystrophies musculaires, il n'est pas malséant d'envisager qu'il existe un processus étiopathogénique commun à la maladie de Duchenne et à la myopathie hypothyroïdienne, ou d'une manière plus simple et plus générale, que l'augmentation des PDE dans ces deux circonstances soit le reflet, l'expresion, de modifications communes (pas forcément pathologiques mais aussi physiologiques ou fonctionnelles).

5.2.2.6. *Rapport Pm/ATP*

Les pics observés dans la région des Pm ont été attribués soit à la production d'IMP (127), soit, plus souvent, à des oses monophosphates produits pendant la glycogénolyse (40, 48, 65, 72).

Comme DUBOC et al.. (65), nous observons une discrète ascension des Pm en début de récupération, suggérant que la glycogénolyse ne s'arrête pas instantanément à la fin de l'exercice. Cependant, l'absence de différence vraiment significative entre le groupe témoin (qui présente les valeurs du rapport Pm/ATP les

plus basses) et les groupes de rats hypothyroïdiens nous laisse supposer que certaines enzymes clés de la glycogénolyse telle la phosphofructokinase et la phosphoglycérate kinase, présentent un fonctionnement intègre. En effet, en cas de perturbation de l'activité de ces enzymes, il a été constaté la production d'un pic de Pm conséquent (65) ce qui est loin d'être observé dans notre étude.

Dans leurs études respectives, TAYLOR (205) et ARGOV (5) ne constatent pas davantage de génèse de Pm ou d'oses phosphates.

5.3. SYNTHESE ET HYPOTHESES

Le muscle strié est un tissu cible majeur des hormones thyroïdiennes. Certaines manifestations cliniques sont communes aux états d'hyper et d'hyposécrétion hormonale (fatigue musculaire, faiblesse musculaire).

D'aucuns ayant fait part d'une meilleure efficacité de la contraction musculaire chez les hypothyroïdiens (214), il nous a semblé intéressant d'aborder la physiologie musculaire dans ce type d'affection en ayant recours à la spectroscopie ^{31}P-RMN qui permet d'appréhender le métabolisme des molécules phosphatées in situ, sans porter préjudice aux éléments cellulaires ou sub-cellulaires et ce, de manière reproductible. En effet, il nous a semblé hautement improbable qu'un état pathologique occasionné par une carence hormonale puisse se manifester par une amélioration des performances musculaires. Le profil hormonal actuel n'est-il pas le fruit de l'évolution, c'est à dire des perfectionnements incessants et d'adaptations successives sous la pression de l'environnement ? Cette lente et constante évolution n'aurait-elle abouti qu'à une gabegie énergétique, à un métabolisme musculaire dispendieux et indapté ? Cela ne nous satisfait nuellement.

D'un autre côté, les expériences de WILES et al.. (214) menées avec une grande rigueur scientifique sont-elles sujettes à caution ?

Nous avons voulu, en nous référant aux observations des métabolismes énergétiques au sein même des myocytes, essayer de comprendre un peu mieux l'incidence des altérations occasionnées par la carence en hormones thyroïdiennes sur les phénomènes de contraction musculaire.

Notre étude spectroscopique a permis de rendre compte d'un certain nombre de phénomènes :

• l'existence d'un pH au repos plus acide chez les rats hypothyroïdiens. Ce pH s'acidifie encore d'avantage lors de l'excitation, et, durant la récupération, il tarde à recouvrer sa valeur initiale.

• l'hydrolyse plus importante de la phosphocréatine avec production concomitante de phosphates inorganiques. La régénération de la phosphocréatine est par ailleurs considérablement ralentie chez les rats intoxiqués.

• la production de phosphodiesters pendant la contraction musculaire

• la consommation d'ATP durant l'exercice.

ces deux derniers phénomènes étant propres aux rats hypothyroïdiens.

L'ensemble de ces variations est observé très précocément dans le contexte d'hypothyroïdie expérimentale imposé par notre étude, ce qui ne ressort pas des études spectroscopiques antérieures (5, 205) mais confirme des études plus anciennes (159, 211).

La somme de ces résultats nous permet donc de conclure que l'hypothyroïdie induit au sein du tissu musculaire des modifications proches de celles décrites dans les myopathies mitochondriales (3, 94, 221). Ces observations corroborent certaines données plus anciennes assignant un rôle dépresseur des fonctions oxydatives musculaires aux carences en hormones thyroïdiennes (11, 12, 89, 108, 119, 159, 211).

Afin d'expliquer le rôle inhérant à chacune des modifications observées, nous avons essayé de déterminer la succession des événements qui conduit du muscle sain au muscle myxoedémateux.

Le primum movens de la séquence physiopathologique est la diminution des hormones circulantes.

Celles-ci présentent plusieurs points d'impact importants sur la physiologie de la contraction musculaire :

• **la mitochondrie** :

Il a été démontré l'existence d'un récepteur spécifique de la T3 dans cette organelle, contrôlant l'activité enzymatique respiratoire du muscle (202). Par ailleurs, il a également été signalé une diminution de la synthèse des phospholipides mitochondriaux dans de nombreux tissus (157) ainsi qu'une altération de la perméabilité aux cations de la membrane interne (96) en cas d'hypothyroïdie.

• **le réticulum sarcoplasmique** (77, 120, 187, 197)

• **de nombreux enzymes** (16, 105, 192, 222)

• **plusieurs hormones** intervenant dans des voies métaboliques importantes (catécholamines, glucagon, insuline) (16, 105, 192, 222)

• **les systèmes de pompe ionique** (75)

• **les synthèses protéiques**.

La thyroxine est indispensable à la production d'une quantité normale de protéines (105). En cas d'hypothyroïdie, il existe une diminution de 50 % de la production de RNA et de 18 % de l'efficacité de la synthèse protéique dans l'étude de FLAIM et al. (79). Dans l'étude de BROWN et al., la diminution de la synthèse protéique est jugée secondaire à la chute du RNA, sans perte dans l'efficacité de la synthèse protéique (29). Dans une étude récente, MORRISSON et al. concluent cependant à un turn over protéique perturbé en ce qui concerne l'homéostasie protéique globale de l'organisme sans que la participation musculaire ne soit flagrante (153).

Par ailleurs, l'impact des hormones thyroïdiennes ne se cantonne pas à l'appareil locomoteur mais touche toutes les fonctions vitales avec plus ou moins de sévérité, et notamment diverses fonctions en rapport direct avec l'activité motrice, à savoir :

- les fonctions supérieures, occasionnant un ralentissement idéomoteur qui s'amplifie avec la profondeur de la carence hormonale (1)

- le système cardiocirculatoire (11, 199)

- l'appareil respiratoire (111)

- le sang (103)

qui véhiculent le comburant oxygène indispensable aux phosphorylations oxydatives mitochondriales.

La diminution des hormones thyroïdiennes génère donc des altérations métaboliques au sein de nombreux tissus et au sein du muscle strié. Les répercussions seront multiples :

- diminution des enzymes du métabolisme oxydatif
- modifications de la glycogénolyse et des métabolismes anaérobies
- altération des flux calciques.

1°) Diminution des enzymes du métabolisme oxydatif
(12, 89, 108, 112, 119, 159, 207)

Dans notre étude, la diminution des enzymes du métabolisme oxydatif rend compte de la diminution des rapports PCr/Pi et PCR/(PCr + Pi) et surtout de la lenteur de la régénération de la phosphocréatine chez les rats hypothyroïdiens.

Une autre conséquence en est la combustion d'ATP constatée durant l'exercice, faute de capacités oxydatives suffisantes pour empêcher cette utilisation.

Il est à noter que l'oxydation des lipides et autant touchée que celle des glucides.

Le trouble de l'oxydation lipidique est sensible à 2 niveaux :

• à l'échelon de la production de substrat lipidique pour le moteur musculaire via la lipolyse du tissu adipeux

En effet, l'adényl-cyclase, qui est sous le contrôle de la FT3 et dont la cible est la lipase du tissu adipeux via l'AMPc, voit son activité diminuer parallèlement à la diminution de la T3 (105) alors même que la quantité de lipase est normale.

Par ailleurs, la lipolyse des adipocytes en réponse aux catécholamines est également ralentie chez l'être humain et le rat dans l'hypothyroïdie (55, 91, 180) tout comme elle l'est aussi en réponse à d'autres hormones stimulant l'adényl-cyclase telles l'ACTH, la TSH et le Glucagon (180). Il en résulte des acides gras libres circulants normaux ou légérement diminés dans l'hypothyroïdie (132).

• l'étape mitochondriale, où les enzymes de la béta-oxydation des lipides sont diminués en cas d'hypothyroïdie (12, 108, 159).

Le trouble de l'oxydation des glucides (59) se manifeste par une diminution d'activité de la pyruvate deshydrogénase ou d'autres enzymes de la glycolyse (12).

Le voie finale des phénomènes d'oxydation mitochondriale, à savoir la chaîne de transport des électrons, voit également son activité affectée dans le myxoedème, comme en témoigne la diminution des cytochromes (207) ou de la cytochrome oxydase (119, 159).

2°) Modifications de la glycogénolyse et des métabolismes anaérobies

La glycogénolyse induite par les catécholamines et le glucagon via l'adénylcyclase et le second messager qu'est l'AMPc, est effondrée par l'hypothyroïdie (105, 147). Il en résulte une accumulation de glycogène au repos prenant l'aspect de granules denses à l'étude ultrastructurale (119, 143, 160). A la spectroscopie RMN, cette anomalie est reflétée par les fluctuations du rapport PCr/ATP. L'incapacité de la glycogénolyse à contrebalancer la baisse de régime des phénomènes oxydatifs se traduit par la chute concomitante de la PCr et de l'ATP.

Tous les auteurs ne s'accordent pas cependant à cette hypothèse.

En effet, WILES et al.. (214) concluent à une glycogénolyse normale et BALDWIN et al.. (12) à une glycogénolyse accrue pour contrebalancer la dévaluation des capacités oxydatives, ce que confirme l'étude de KACIUBA-USCILKO et al.. (115).

Il est fort possible qu'en fait, l'explication de cette discordance soit relativement simple. En effet, la présence accrue de glycogène au repos (119, 143, 160) traduit sans doute une glycogénolyse effectivement diminuée (105).

A l'effort, du fait de l'altération des fonctions oxydatives, une **participation relative** plus importante de la composante glycogénolytique pourrait intervenir. L'apport de cette autre voie métabolique pourrait être sensible, tant dans les voies oxydatives (pour équilibrer le déficit de la consommation des substrats lipidiques) que dans les voies anaérobies (pour produire le complément énergétique requis). Ce phénomène rendrait d'ailleurs compte de l'acidification accrue du contenu cellulaire (115) que nous observons en RMN durant toute l'expérimentation. La baisse du pHi, encore majorée à l'effort, du fait de ce recrutement de la glycogénolyse, ne se manifesterait pas dans le milieu plasmatique en raison de troubles de la perméabilité cellulaire ou du dysfonctionnement des pompes à cations.

3°) Altération des flux calciques

3°) Altération des flux calciques

Les flux de calcium au niveau du réticulum sarcoplasmique sont en partie responsables du métabolisme de base (197) dont on connaît la diminution dans l'hypothyroïdie. Il a d'ailleurs été prouvé une diminution des flux calciques du réticulum sarcoplasmique dans l'hypothyroïdie (187, 197).

Ce processus pourrait participer, éventuellement de pair avec les altérations métaboliques décrites précédemment, à des modifications phénotypiques des fibres musculaires.

Nous aboutirons à un stade évolutif accessible aux investigations morphologiques.

En effet, la carence hormonale entraîne également une diminution de l'abondance de ce réticulum sarcoplasmique par ailleurs ralenti. Ce processus témoigne de la dépression des activités de transport du calcium et de leur dépendance vis à vis de la protéine-kinase contrôlée par l'AMPc. Cette AMPc est spécifique du réticulum sarcoplasmique des muscles lents (159, 197). L'activité Ca-ATPase du réticulum sarcoplasmique est déprimée. Il en résulte un temps de relaxation musculaire prolongé du fait du retard au recaptage du calcium par le réticulum sarcoplasmique (76).

Simultanément, ou sans doute légérement décalé dans le temps, l'ensemble de ces événements entraînerait des modifications dans l'expression phénotypique du type de myosine (108, 187). Il en résulterait la synthèse préférentielle de myosine de type lent, avec pour conséquence la transformation des fibres de type II en fibres de type I. Une étape intermédiaire pourrait être la différenciation préalable en fibres de type intermédiaire, également augmentées dans l'hypothyroïdie (187).

Le stigmate RMN en est, d'une part la diminution du rapport PCr/Pi, d'autre part la production d'un pic de PDE, notamment à l'effort, dès les stades les plus précoces de l'hypothyroïdie.

Ces événements témoignent d'une adaptation fonctionnelle rapide à l'état de carence hormonale. L'expression histologique n'apparaîtrait donc qu'ultérieurement et pourait se pérèniser, si une thérapeutique idoine n'est pas instaurée précocément.

La carence en hormones thyroïdiennes induit une diminution de l'activité psychomotrice et occasionne des altérations qualitatives et quantitatives des métabolismes énergétiques.

D'un point de vue finaliste, tout se passe comme si cette redistribution des besoins et des moyens évoluait dans le sens d'un rendement optimum.

Ainsi, lorsque la commande centrale, devenue moins exigeante, sollitite l'effecteur musculaire, ce sera surtout aux dépens de la musculation antigravifique et dans des conditions aérobies. Or, nous assistons effectivement à la multiplication et au développement des fibres de type I justement appropriées à ce type d'exercice. Par ailleurs, ces fibres rouges sont de surcroît le siège d'une conversion périphérique de T4 en T3, l'hormone active, supérieure à leurs homologues blanches (159). Elles pourront donc continuer à fonctionner pour des concentrations sanguines relativement basses de T4 et T3.

Il ne nous semble pas que de telles modifications puissent cependant être responsables d'une meilleure efficacité globale, malgré les conclusions de l'étude de WILES et al.. (214). En effet, la constatation de la consommation d'ATP et la régénération ralentie de la PCr constatées dans notre étude plaident contre une telle hypothèse. D'ailleurs, des études réalisées dans des conditions plus appropriées que celles de WILES confirment les impressions cliniques faisant état d'une diminution des capacités physiques du muscle hypothyroïdien (12, 32, 59). Une curieuse étude réalisée en IRM abonde également dans ce sens, puisque ZURCHER et al.. ont établi une diminution du travail par unité de surface de section musculaire dans l'hypothyroïdie (225).

Le caractère fonctionnel des troubles est confirmé , du moins au départ, par la réversibilité sous traitement (5) et la possibilité d'amender tout ou partie du déficit métabolique par l'entraînement physique qui permet des gains plus appréciables chez les hypothyroïdiens (89, 207).

La spectroscopie RMN est un outil très performant dans l'étude des métabolismes énergétiques musculaires. Grâce à cette haute technologie, il nous paraît intéressant de compléter notre travail par le suivi spectroscropique de l'effet d'une thérapeutique substitutive, l'appréhension des modifications survenant pour des efforts d'intensité graduée, aérobie et anaérobie, et l'étude des mêmes paramètres dans des populations d'hyperthyroïdiens.

L'utilisation d'autres spectres que celui du ^{31}P-RMN pourrait être judicieux. De telles investigations pourraient améliorer nos connaissances concernant l'impact musculaire des hormones thyroïdiennes.

6. CONCLUSION

Dans notre travail, utilisant la spectroscopie RMN du phosphore 31, nous avons pu étudier le métabolisme du muscle strié squelettique in vivo. Ainsi, nous avons pu établir le profil spectroscopique dans trois populations de rats Whistar présentant des hypothyroïdies iatrogènes d'ancienneté croissante. Nous avons secondairement compare les spectres obtenus aux caractéristiques établies dans une population de rats témoins, au repos, à l'exercice et lors de la récupération. Ces confrontations ont permis d'aboutir aux constatations suivantes :

• au repos, le muscle myxoedémateux est plus acide que le muscle sain

• à l'effort, le muscle hypothyroïdien semble consommer davantage de phosphocréatine et sans doute de l'ATP. Il y a production concomitante de phosphodiesters dont la fonction exacte n'est pas encore établie, traduisant vraisemblablement des remaniements membranaires.

• durant la récupération, la régénération de la phosphocréatine est considérablement ralentie dans le muscle hypothyroïdien. Cela traduit la défaillance des processus de phosphorylation oxydative malgré les modifications histochimiques observées dans le muscle hypothyroïdien semblant privilégier la "différenciation" en fibres de type I.

L'ensemble de ces constatations est compatible avec une souffrance des métabolismes mitochondriaux qui ferait entrer la myopathie hypothyroïdienne dans le cadre nosologique des myopathies mitochondriales acquises.

Ces troubles sont par ailleurs excessivement précoces, puisque nous les observons dès 2 semaines d'intoxication des rats par le propylthiouracile. Cela suppose l'installation d'un trouble fonctionnel précédant les remaniements organiques accessibles à la microscopie conventionnelle.

D'autres études spectroscopiques permettraient d'étudier le même type d'affection dans des conditions expérimentales différentes (exercice anaérobie, hypothyroïdie de sévérités moindre ou accusée) ou de définir le profil évolutif sous une thérapeutique hormonale substitutive . Ceci préciserait nos connaissances dans le domaine passionnant de la pathologie des confins neuroendocriniens.

7. ANNEXE

Nous présentons dans cette annexe, les bases physiques et les principales applications de la résonance magnétique nucléaire.

7.1. SPECTROSCOPIE DE RESONANCE MAGNETIQUE NUCLAIRE

7.1.1. Introduction

Les études des métabolismes cellulaires in vitro ont été progressivement délaissées pour des tentatives d'étude in vivo. Parmi les techniques permettant d'appréhender les métabolismes au sein même des tissus et des cellules, voire même des organites subcellulaire, la résonance magnétique nucléaire, qui par ailleurs respecte l'intégrité des structures investiguées, occupe une place de choix. Grâce à la résonance magnétique nucléaire du noyau phosphore 31, présent à 100 % en abondance naturelle, il est devenu possible d'aborder les recherches aussi délicates que l'identification et la quantification de métabolites (concentrations absolues et relatives), la mesure du pH intracellulaire, la différenciation des compartiments cellulaires, la détermination des flux métaboliques dans des conditions physiologiques et pathologiques, le calcul des cinétiques enzymatiques (20, 43, 127, 172, 183, 204).

L'application de ce type d'investigation au métabolisme énergétique musculaire est d'un immense intérêt.

En effet, si le profil énergétique du muscle au repos a ainsi pu être déterminé in situ ,depuis l'apparition des bobines de surface, dans les années 1980, des études ont également permis d'évaluer les modifications physiologiques, notamment lors du travail musculaire (7, 41, 42, 48, 49, 50, 118, 166, 188, 206, 215), les atteintes musculaires primitives (8, 13, 35, 40, 44, 65, 70, 71, 72, 83, 113, 114, 155, 171, 181, 182, 191) et dans les souffrances musculaires secondaires, soit à des phénomènes ischémiques, de type artéritique (98, 117), soit à une insuffisance cardiaque (135, 136, 137, 139, 213, 219), soit à une insuffisance respiratoire (185), soit d'origine diverses (6).

C'est à l'aide d'un tel équipement que nous nous sommes proposés d'étudier le métabolisme du muscle strié squelettique du rat hypothyroïdien.

7.1.2. Principes de la résonance magnétique nucléaire

7.1.2.1. Introduction - historique

Suggéré dès 1924 par PAULI pour expliquer les structures hyperfines rencontrées en spectrométrie optique, le magnétisme du noyau considéré dès lors comme un dipôle magnétique, a fait l'objet de nombreux travaux dès la fin de la seconde guerre mondiale grâce au développement des techniques radioélectriques.

Ainsi, l'assimilation de certains noyaux à de petits aimants a permis à l'équipe de BLOCH à STANFORD et de PURCEL à HARVARD d'obtenir les premiers spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) dès 1945, en utilisant l'atome d'hydrogène.

Entre 1950 et 1970, le champ d'application de la RMN est essentiellement l'étude des structures moléculaires en chimie.

Un autre domaine d'utilisation naît en 1973 grâce aux travaux indépendants de LAUTERBUR, père de la Zeugmatographie) et de MANSFIELD qui, proposant l'utilisation de gradients linéaires du champ magnétique pour obtenir une image par codage spatial du signal de RMN, posent les jalons d'une technique d'imagerie révolutionnaire : l'IRM ou Imagerie par Résonance Magnétique.

Parallèlement, l'utilisation de champs magnétiques de plus en plus puissants, l'application de technologies plus sophistiquées et de techniques nouvelles a permis, grâce à des spectromètres utilisant une onde radio-fréquence, de déterminer des spectres de métabolites dans des cellules en culture in vivo, procédé utilisé dans cette étude (19, 20, 46, 53, 172, 183, 209).

7.1.2.2. Principes fondamentaux de la RMN

7.1.2.2.1. Notion de champ et de moment

Si l'on considère un petit aimant placé au voisinage d'un aimant plus puissant ou d'un courant électrique, le petit aimant subit l'action de son environnement.

La grandeur vectorielle décrivant l'espace modifié par la présence d'aimants ou de courants électriques est le champ magnétique, dont l'intensité s'exprime en tesla.

La grandeur vectorielle attachée à un système magnétique (le petit aimant dans notre exemple) qui permet de décrire son comportement dans un champ magnétique est son moment magnétique.

7.1.2.2.2. Propriétés nucléaires

L'atome est formé d'un noyau central chargé positivement, constitué de protons chargés positivement et de neutrons sans charge, qui porte la quasi totalité de la masse et en périphérie d'électrons, porteurs de charges électriques négatives et de masse négligeable. Le noyau peut être assimilé de ce fait à une masse sur laquelle est distribuée uniformément une quantité de charges positives.

Cette masse, et par conséquent la charge, peut être dotée d'un mouvement de rotation autour d'un axe, passant par le centre de gravité du noyau, mouvement qui peut être décrit par une grandeur physique (vecteur) appelée moment de la quantité de mouvement angulaire ($\vec{I}$) quantifié par un nombre quantique dit "de spin" (figure 25).

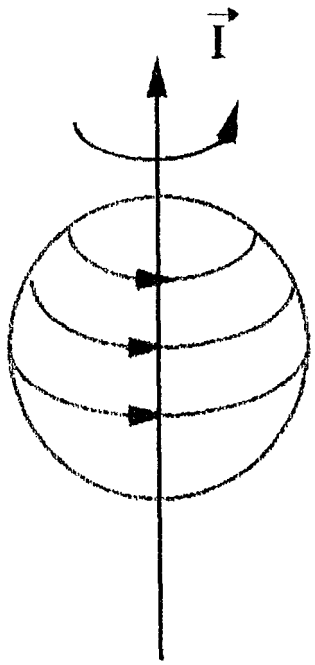


Figure 25

Moment de la quantité de mouvement angulaire d'un noyau ($\vec{I}$) ou spin

Une sphère chargée électriquement, tournant sur elle même génère un champ magnétique qui est décrit par une autre grandeur physique : le vecteur moment magnétique $\vec{\mu}$ qui s'aligne sur l'axe de rotation.

Le moment magnétique résultant est proportionnel au moment cinétique de rotation ou moment de la quantité de mouvement angulaire ($\vec{I}$) (figure 26) :

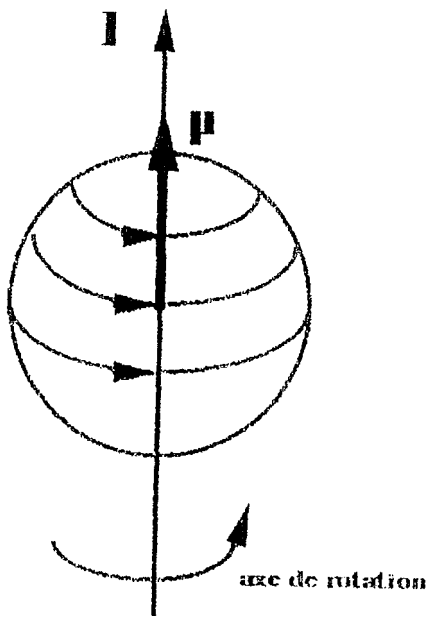


Figure 26
Moment magnétique nucléaire $\vec{\mu}$ avec $\vec{I} \neq 0$

$$\vec{\mu} = \gamma \vec{I}$$

Dans cette relation γ est appelé rapport gyromagnétique. Il possède une valeur caractéristique pour chaque atome, fonction de sa charge et de sa masse.

Le nombre quantique de spin a pour valeur 1/2 ou un multiple de 1/2. La plupart des noyaux présents dans les molécules d'intérêt biologique (^{1}H, ^{13}C, ^{31}P) ont une valeur de spin de 1/2

7.1.2.2.3. Interaction des noyaux avec les champs magnétiques

Soit un noyau de moment magnétique $\vec{\mu}$ soumis à l'action d'un champ magnétique $\vec{B}o$. Leur interaction se traduira par le phénomène suivant : une réorientation du moment $\vec{\mu}$ caractérisé par une énergie d'interaction dans un mouvement de précession

7.1.2.2.4. Orientation du moment

En se référant à la mécanique quantique, le moment magnétique nucléaire ne peut prendre que des orientations discrètes par rapport à la direction du champ magnétique.

On peut déduire que le nombre des orientations possibles pour un spin donné $\vec{I}$ est de : $2 \| \vec{I} \| + 1$.

A chaque orientation correspond un état d'énergie donné ou niveau d'énergie.

La plupart des noyaux qui nous intéressent ont un spin égal à 1/2. Il en résulte qu'ils peuvent prendre 2 x 1/2 + 1 = 2 orientations qui forment avec la direction de $\vec{B}o$ un angle ϑ ou un angle $(\Pi - \vartheta)$ (figure 27). Les moments en revanche prennent autour du champ n'importe quelle position correspondant à ces angles, i.e. qu'ils se trouvent n'importe où sur l'un des deux cônes qu'ils définissent (figure 28).

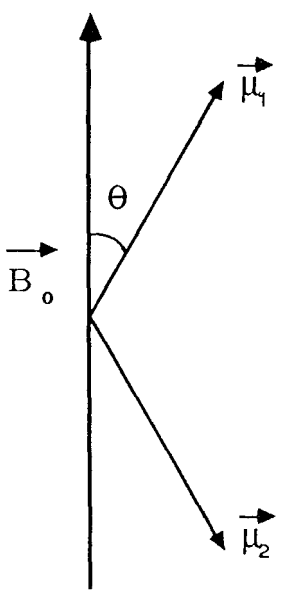


Figure 27

Placés dans un champ $\vec{Bo}$, les moments μ des différents protons s'orientent selon l'un des angles ϑ ou $\Pi - \vartheta$

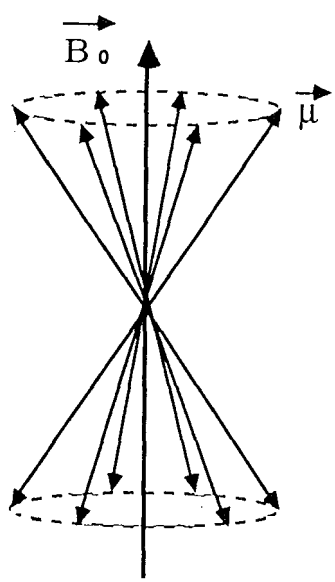


Figure 28

Tout en restant astreints aux 2 angles ϑ et $\Pi - \vartheta$, les moments μ peuvent se trouver en une position quelconque sur le cône définir par ϑ

7.1.2.2.5. Energie d'interaction

Pour un moment $\vec{\mu}$ des particules, la physique permet d'aboutir à la relation générale suivante permettant de définir l'énergie d'interaction ($\vec{E}$) entre le champ magnétique $\vec{Bo}$ et le moment magnétique élémentaire $\vec{\mu}$

$$\vec{E} = \vec{\mu}\,\vec{Bo}\cos(\widehat{\mu, Bo})$$

En ce qui concerne le proton, l'angle $(\widehat{\mu, Bo})$ étant limité à un petit nombre de valeurs discrètes (2 valeurs en fait définies par les 2 possibilités d'angle $(\widehat{\mu,Bo})$ à savoir $\vartheta_1 = \vartheta$ et $\vartheta_2 = \pi - \vartheta$ considérés précédemment) seules 2 valeurs de E existent respectivement :

$\vec{E} = + 1/2\,\gamma\, h^* \vec{Bo}$ et $\vec{E} = - 1/2\,\gamma\, h^* \vec{Bo}$ avec

$h^* = \frac{h}{2\pi}$ h = constante de Planck = $6{,}62554 \times 10^{-27}$ erg-sec

L'angle le plus fermé définit l'état fondamental, l'angle le plus ouvert l'état excité auquel le système parvient en absorbant l'énergie $\vec{\Delta E}$ donnée par la différence des deux valeurs :

$$\vec{\Delta E} = \gamma\, h^* \vec{Bo}$$

7.1.2.3. *Mouvement de précession*

Une réorientation du moment macroscopique n'est pas le seul mouvement provoqué par la présence du champ magnétique. La relation entre les moments magnétique et cinétique d'une particule implique une rotation de celle-ci ainsi que de son moment magnétique autour de la direction du champ.

Ce mouvement, dit de précession, est comparable à celui d'un gyroscope, qui, tout en tournant rapidement sur lui-même, est animé spontanément d'un

mouvement de rotation plus lent autour de la verticale, lorsque son axe est incliné par rapport à celle-ci (figure 29)

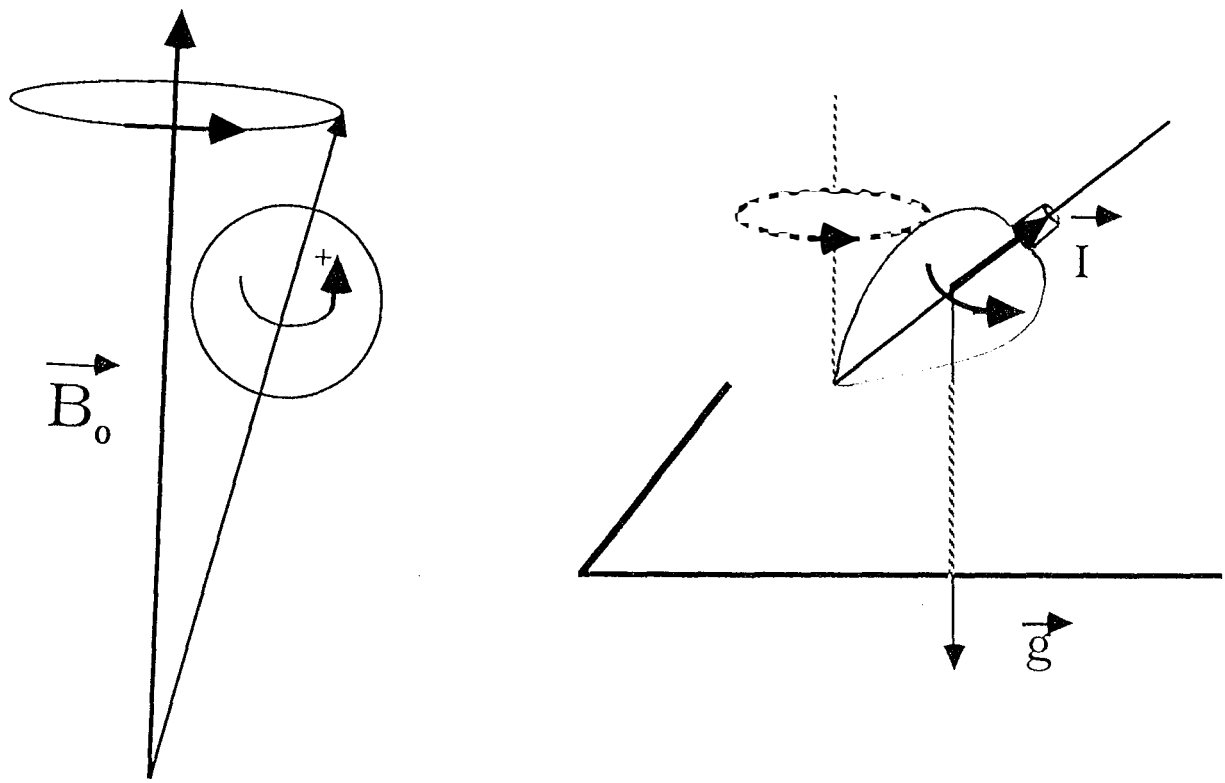


Figure 29

Mouvement de précession d'un spin élémentaire ou d'une toupie.

Le champ magnétique agit sur le moment magnétique et le moment cinétique de spin de la particule de la même façon que le champ de gravité agit sur la masse et le moment cinétique de la toupie.

La précession s'effectue à une vitesse angulaire $\vec{\omega}$ répondant au produit du champ magnétique $\vec{Bo}$ par le rapport gyromagnétique γ selon la relation de Larmor

$$\vec{\omega o} = \gamma \ ||\vec{Bo}||$$

7.1.2.4. Notion générale de résonance

De nombreux systèmes présentent un état lié à une périodicité temporelle.

Les possibilités d'échange énergétique entre de tels systèmes et un agent extérieur nécessitent une concordance entre leur fréquence propre et donc leur vitesse de rotation propre et une certaine périodicité de l'agent extérieur.

Ainsi, par exemple, pour amplifier le mouvement d'une balançoire, il faut la pousser à la même cadence que son propre balancement et non de façon anarchique.

De même, les vibrations d'un diapason accordé sur le "la" ne peuvent exciter dans une gamme de diapasons que celui donnant également le "la".

C'est cette nécessité de congruence entre la fréquence du système receveur et celle de l'agent extérieur que l'on traduit par la notion de résonance.

L'interaction entre deux systèmes en résonance est caractérisée par deux phénomènes :

- un échange d'énergie entre les deux systèmes qui peut d'ailleurs s'effectuer alternativement dans un sens et dans l'autre

- une variation de l'intensité i des échanges énergétiques en fonction de la différence entre les fréquences $\omega 1$ et $\omega 2$ des deux systèmes qui interagissent. L'échange est maximal pour $\omega 1 = \omega 2$, mais est encore important pour des valeurs de $\omega 1$ et $\omega 2$ très voisines mais non identiques. Cette particularité est due au fait que chacun des deux systèmes est caractérisé non pas par une fréquence unique, mais par une petite bande de fréquences d'une certaine largeur $\Delta\omega$.

7.1.2.5. *Résonance magnétique nucléaire*

Pour un noyau dont I = 1/2, l'interaction avec un champ magnétique $\overrightarrow{Bo}$ fait effectuer au vecteur moment magnétique $\vec{\mu}$ du noyau un mouvement de précession autour de la direction du champ magnétique appliqué $\overrightarrow{Bo}$.

D'après la relation de Larmor, ce mouvemnet de précession est caractérisé par sa vitesse angulaire $\vec{\omega}o.$:

$\vec{\omega_o} = \gamma \vec{B_o}$ où γ est le rapport gyromagnétique, propre à chaque espèce nucléaire.

On donne le nom de fréquence de Larmor à la fréquence de rotation correspondante, c'est à dire en ne conservant que les valeurs absolues, à la quantité Vo définie par :

$$Vo = \frac{|\vec{\omega_o}|}{2\pi}$$

avec Vo = fréquence de Larmor

ω_o = vitesse angulaire

Il en résulte que notre moment magnétique nucléaire soumis à Bo effectue un mouvement de précession parallèlement ou antiparallèlement à Bo avec une fréquence égale à :

$$Vo = \frac{|\gamma \vec{Bo}|}{2\pi}$$

avec | | : intensité du module du vecteur

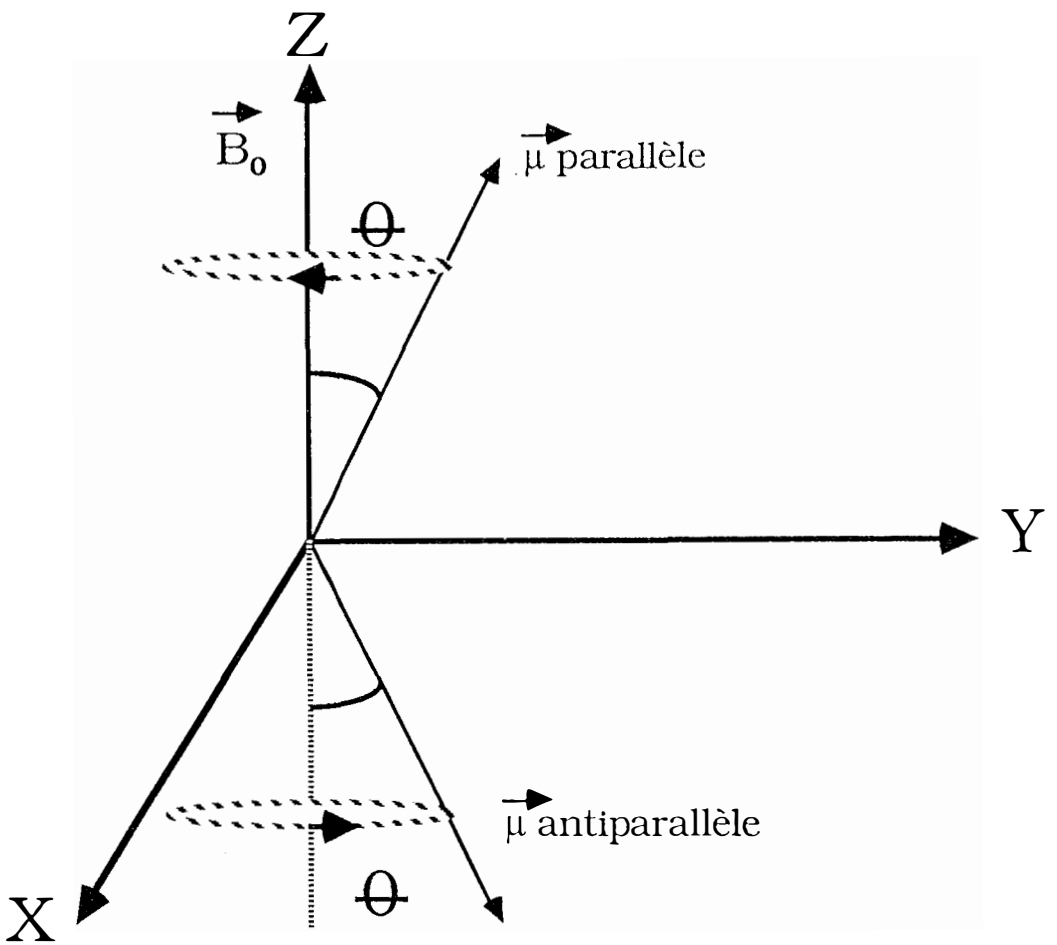


Figure 30

Mouvements de précession des moments magnétiques $\vec{\mu}$ d'un noyau dont $\vec{I}$ = 1/2, placé dans un champ magnétique $\vec{Bo}$

(d'après 46)

Si nous créons un deuxième champ magnétique $\vec{B1}$ dans le plan XY perpendiculaire à $\vec{Bo}$, le moment magnétique nucléaire se trouve également soumis à l'action de ce champ. Plusieurs possibilités sont à envisager :

1. Si la direction de $\vec{B1}$ est fixe, l'interaction est pratiquement nulle : en effet, puisque $\vec{\mu}$ tourne avec une vitesse angulaire $\vec{\omega o}$, pour chaque valeur d'un angle quelconque de rotation ϑ, on a un effet de $\vec{Bo}$ sur $\vec{\mu}$ égal et contraire à celui qui correspond à l'angle $\vartheta + 180°$.

2. Si $\vec{B1}$ est un champ tournant avec une vitesse angulaire $\vec{\omega 1}$ constante, différente de $\vec{\omega o}$, après un nombre de rotation suffisamment élevé, l'effet de $\vec{B1}$ sur $\vec{\mu}$ est nul.

3. La condition nécessaire et suffisante pour que le moment magnétique nucléaire soit constamment soumis à l'action de $\vec{B1}$ et puisse être influencé est que $\vec{B1}$ tourne avec une vitesse angulaire $\vec{\omega 1}$ qui soit identique à la vitesse angulaire $\vec{\omega o}$.

Cette condition est satisfaite en terme de fréquence lorsque $V1 = Vo$ ce qui signifie qu'il existe une valeur bien définie de la fréquence de $\vec{B1}$ qui exerce une influence constante dans le temps sur le moment magnétique nucléaire.

On peut dire que $\vec{\mu}$ oscille entre les positions $\mu 1$ et $\mu 2$, symétriques par rapport au plan XOY de $\vec{B1}$. Il y a résonance (figure 31).

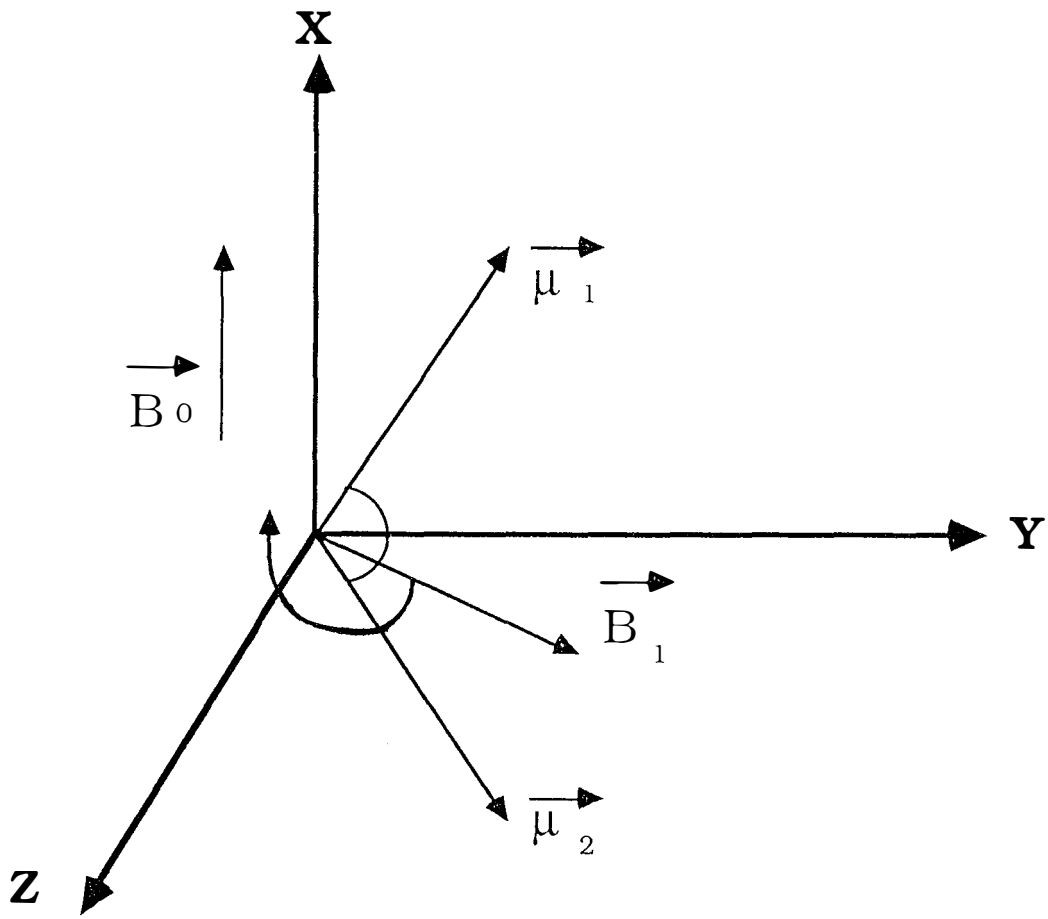


FIGURE 31: PRINCIPE DE RESONANCE. $\vec{B1}$ tourne dans le plan XOY à la vitesse V1=V0. $\vec{\mu}$ oscille entre les positions μ1 et μ2, symétriques par rapport au plan XOY de $\vec{B1}$. Il y a resonance.

Figure 31

Principe de résonance

Si par ailleurs, la mécanique quantique spécifie que le moment magnétique d'un noyau donné, placé dans un champ magnétique, ne pourra prendre qu'un nombre discret d'orientation à savoir (2I + 1), il y aura absorption ou émission d'une quantité d'énergie bien définie entre les différents niveaux d'excitation.

$$\Delta \vec{E} = \frac{\vec{\mu} \times \vec{Bo}}{\vec{I}} \equiv hVo$$ où h est la constante de Planck

Si nous irradions notre système, déjà soumis à l'action de $\vec{Bo}$, avec une quantité d'énergie correspondant à l'écart entre les niveaux d'énergie voisins $\Delta \vec{E}$,

l'absorption de cette énergie peut faire passer les moments magnétiques nucléaires d'un niveau à l'autre. On parle de transition entre les niveaux d'énergie.

Ainsi, dans le cas des noyaux de spin égal à 1/2, en fournissant au système une énergie égale à $|2\vec{\mu} \times \vec{Bo}|$ nous obtenons le passage de E↑ appelée énergie parallèle à la direction du champ magnétique Bo à E↓, énergie antiparallèle avec

$E\uparrow = -\vec{\mu} \times \vec{Bo}$

$E\downarrow = \vec{\mu} \times \vec{Bo}$

C'est en terme d'énergie, le principe du phénomène de résonance magnétique nucléaire RMN.

L'énergie qui doit être fournie peut aussi s'écrire

$\Delta \vec{E} = hV$

avec : $\Delta \vec{E}$: quantité d'énergie nécessaire à la transition

h : constante de Planck

V : fréquence de la radiation requise

les échanges peuvent s'effectuer dans les deux sens, c'est à dire qu'à côté d'une absorption de photon par le système champ-moment, il peut se produire un phénomène d'émission stimulée, l'absorption étant le phénomène le plus probable (loi de Boltzmann)

Lors de l'absorption, le moment $\vec{\mu}$ bascule de sa position formant avec $\vec{Bo}$ l'angle le plus faible à la position formant l'angle le plus grand. Lors d'une émission stimulée, on assiste au phénomène inverse (schéma tiré de 53)

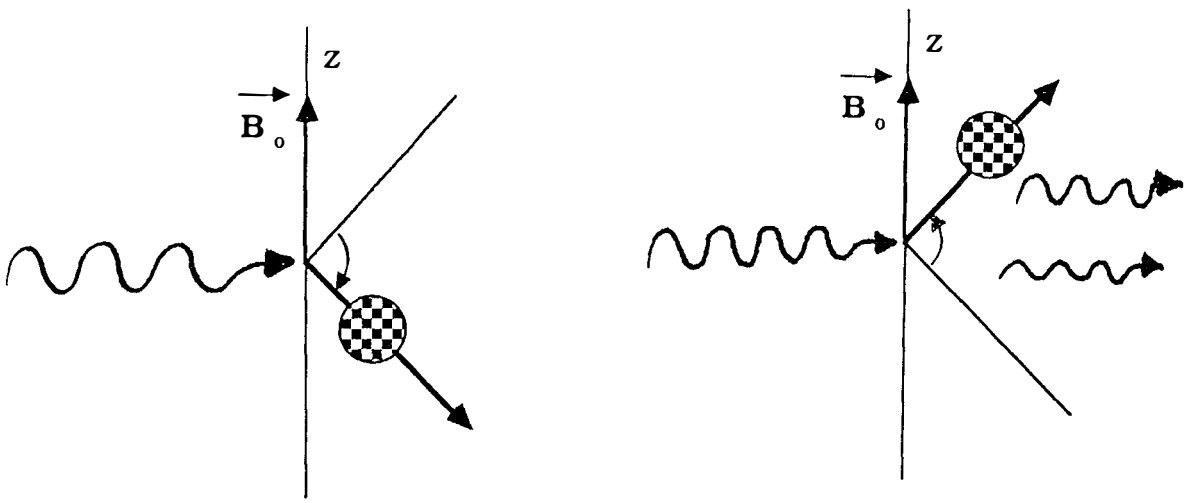


Figure 32

Echanges d'énergie entre une onde et le système champ-moment

En conclusion, le noyau de moment magnétique $\vec{\mu}$ qui effectue un mouvement de précession dans la direction de $\vec{Bo}$ avec $\vec{\omega o} = \gamma \vec{Bo}$ et avec un niveau énergétique $E\uparrow = - \vec{\mu} \times \vec{Bo}$ soumis à un champ magnétique tournant $\vec{B1}$ dans le plan XOY et de fréquence $V1 \equiv Vo$, peut absorber l'énergie de $\vec{B1}$ et passer au niveau $E\downarrow = \vec{\mu} \times \vec{Bo}$, en continuant son mouvement de précession avec le même $\vec{\omega o}$ mais antiparallèlement à $\vec{Bo}$. On dit que le système nucléaire résonne en échangeant de l'énergie avec le champ $\vec{B1}$.

L'absorption d'énergie qui a lieu dans ces conditions peut être enregistrée à l'aide d'un système récepteur et analysée.

Un spectromètre de RMN se composera donc :

1°) D'un aimant (électro-aimant, aimant naturel, aimant superconducteur) qui produit un champ magnétique statique $\vec{Bo}$ nécessaire à l'orientation des moments magnétiques nucléaires, ou en terme d'énergie, nécessaire à leur distribution sur les différents niveaux d'énergie permis.

2°) D'un système (émetteur) capable de créer un champ magnétique B1 tournant dans le plan perpendiculaire à la direction de Bo avec une fréquence V1 appropriée pour permettre la transition des moments magnétiques nucléaires entre les différents niveau d'énergie, c'est-à-dire une onde électromagnétique

3°) D'un système (récepteur) capable de déceler l'absorption d'énergie par le système dans les conditions de résonance

En dehors des conditions de résonance, $\omega_o \neq \omega_1$ et $V_o \neq V_1$, le récepteur ne fournit aucune réponse ou signal.

En cas de résonance $\omega_o = \omega_1$ et $V_o = V_1$, le récepteur révèle l'absorption d'énergie en fournissant un signal appelé **signal de résonance,ou signal RMN**.

7.1.2.6. *Effet des populations à l'échelle macroscopique*

Appliquons à présent les phénomènes que nous venons de décrire à un système constitué par une seule espère nucléaire caractérisée par I = 1/2 et formé par N noyaux par unité de volume.

Si nous appliquons un champ magnétique Bo, les N moments pourront individuellement présenter 2 orientations, à savoir parallèle et antiparallèle, à la direction de Bo avec leur niveau d'énergie correspondant respectif.

N sera partagé en 2 sous-populations d'énergie respectivement :

- plus basse (N+) égale à - μ x Bo et
- plus élevée (N-) égale à μ x Bo

D'après le principe de BOLTZMANN :

$$N^+ = \frac{e^{\frac{|\vec{\mu} \times \vec{Bo}|}{KT}}}{e^{\frac{|\vec{\mu} \times \vec{Bo}|}{KT}} + e^{-\frac{|\vec{\mu} \times \vec{Bo}|}{KT}}}$$

$$\text{et } N- = \frac{e^{-\frac{|\vec{\mu} \times \vec{Bo}|}{KT}}}{e^{\frac{|\vec{\mu} \times \vec{Bo}|}{KT}} + e^{-\frac{|\vec{\mu} \times \vec{Bo}|}{KT}}}$$

avec K = constante de Boltzmann ($1{,}38054 \times 10^{-16}$ erg.degrés^{-1})

T = température absolue

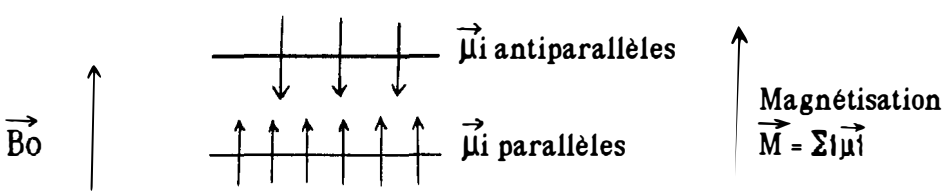
Par conséquent :

$$\frac{N+}{N-} = e^{2\frac{|\vec{\mu} \times \vec{Bo}|}{KT}} \simeq 1 + 2\frac{|\vec{\mu} \times \vec{Bo}|}{KT}$$

La population des noyaux se trouvant au niveau d'énergie le plus bas est plus importante que ceux d'orientation antiparallèle à la direction de $\vec{Bo}$.

On peut en déduire la valeur du vecteur moment magnétique par unité de volume $\vec{M}$ (aimantation), orienté parallèlement à $\vec{Bo}$

$$\vec{M} = \Sigma i \ \vec{\mu}i.N+ - \Sigma \vec{\mu}i.N-$$



Magnétisation des noyaux avec moment magnétique $\vec{\mu}$ et I = 1/2 (d'après 104)

On peut appliquer à $\vec{M}$ toutes les considérations relatives au momet magnétique $\vec{\mu}$ dans le cas du noyau individuel.

L'absorption d'énergie lors du phénomène de résonance peut être décelée par un récepteur et sera proportionnelle à la concentration de l'espèce nucléaire.

L'évolution de l'onde d'excitation en fonction des variations de la fréquence d'irradiation ou, ce qui est équivalent, des variations du champ magnétique, constitue le spectre de RMN de l'espère nucléaire envisagée.

7.1.2.7. *RMN à impulsions*

7.1.2.7.1. Introduction

La méthode dite "à impulsions" est à l'origine des spectromètres RMN les plus récents. Elle consiste à irradier l'échantilon avec des radiations dont les radiofréquences sont situées dans l'intervalle des valeurs désirées, non en continu, mais sous forme d'impulsations très brèves

L'observation du système nucléaire est effectuée une fois la source des radiofréquences éteinte, pendant le retour du système des moments magnétiques, qui, durant la phase d'excitation, a subi la transition entre les différents niveaux d'énergie, à son état initial.

Une analyse mathématique appelée **transformée de Fourier,** permet d'obtenir le spectre RMN.

Cette méthode offre l'avantage d'une meilleure sensibilité et d'une réduction considérable du temps nécessaire au balayage des spectres.

7.1.2.7.2. Principe de la méthode

Les moments magnétiques nucléaires soumis à l'action d'un champ magnétique $\vec{Bo}$ se distribuent sur 2I + 1 niveaux d'énergie séparés entre eux par une différence d'énergie égale à :

$$\Delta \vec{E} = \frac{\vec{\mu} \times \vec{Bo}}{\vec{I}}$$

La fréquence de radiation qui provoque la transition entre les niveaux d'énergie, c'est à dire qui produit le signal de résonance est :

$$Vo = \frac{|\gamma \vec{Bo}|}{2\pi}$$

Pour une population nucléaire N, nous rappelons que :

$$\frac{N+}{N-} \simeq 1 + 2 \left| \frac{\vec{\mu} \times \vec{Bo}}{KT} \right|$$

Pour une valeur constante de $\vec{Bo}$ et T, les 2 populations sont en équilibre. Si nous perturbons cet équilibre, en fournissant au système une quantité d'énergie appropriée, nous modifions le rapport entre les 2 populations dans le sens d'une augmentation de N-, d'une diminution de N+ et donc d'une diminution du rapport, traduisant le passage d'un certain nombre de noyaux à un niveau énergétique supérieur.

A l'arrêt de l'excitation, le système retrouve son état d'équilibre initial en cédant l'énergie absorbée. On parle de relaxation. Le système retrouve son rapport N+/N- initial. Le système nucléaire peut céder l'excédent d'énergie à son environnement (réseau).

Ce processus est caractérisé par un temps T1 appelé temps de relaxation spin nucléaire-réseau ou simplement spin-réseau.

Par ailleurs, les moments magnétiques nucléaires qui se trouvent à deux niveaux d'énergie différents peuvent interagir.

Ainsi, par exemple, un noyau de niveau d'énergie supérieur peut céder son excédent d'énergie à un noyau de niveau d'énergie inférieur. Ce faisant, les 2

noyaux se retrouvent respectivement au niveau énergétique où se situait l'autre noyau précédemment. Par conséquent, cet échange ne modifie pas le nombre total de noyaux dans les deux niveaux d'énergie, ni l'énergie du système tout entier.

Ce phénomène se caractérise par un temps T2 appelé temps de relaxation spin nucléaire-spin nucléaire , ou plus simplement spin-spin.

Appliquons ces données à l'aimantation M étudiée précédemment.

En présence d'un champ magnétique Bo appliqué à des noyaux de spin = 1/2, M est différente de zéro et orientée parallèlement à la direction de Bo.

Dans un système de référence X, Y, Z, où la direction de Bo coïncide avec l'axe Z, nous pouvons décomposer M, grandeur vectorielle, en 3 composantes Mx, My, Mz, selon les trois axes de référence de notre système, qui auront respectivement pour valeur :

$$Mx = 0,\ My = 0,\ Mz = Mo.$$

La composante selon l'axe Z a une valeur constante qui représente la magnétisation à l'état d'équilibre.

Considérons à présent le même ensemble nucléaire par rapport à un système de référence X', Y', Z' tournant autour de Z = Z', avec X' et Y' perpendiculaires entre eux et à Z', et tournant autour de Z' avec une vitesse angulaire $\omega o = \gamma Bo$ soit une fréquence $Vo = \frac{|\gamma Bo|}{2\Pi}$ (figure 33)

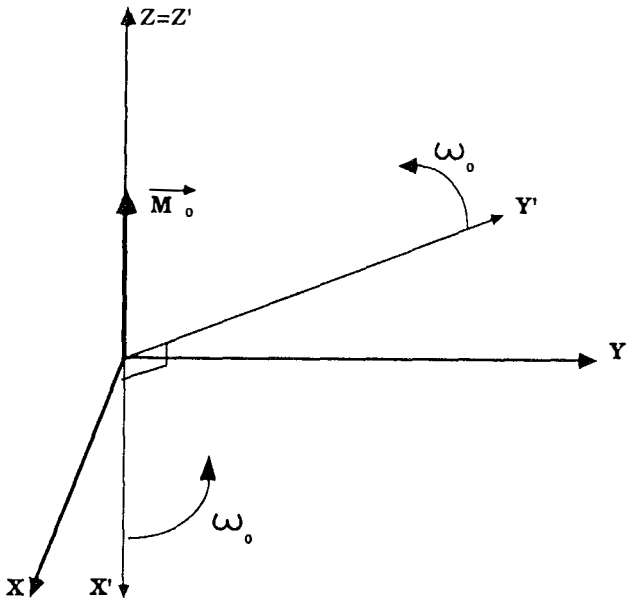


Figure 33

Magnétisation résultante dans un système de coordonnées tournantes avec une vitesse $\overrightarrow{\omega o}$ (d'après 46 et 53)

Dans ce nouveau système de référence, les moments magnétiques qui tournent avec une fréquence

$$Vo = \frac{|\gamma \overrightarrow{Bo}|}{2\Pi}$$

restent fixes puisque dans ce cas la fréquence de rotation sera la même que celle des axes X' et Y'.

Le statisme des mouvements de précession autour de la direction de $\overrightarrow{Bo}$ dans le système tournant de référence équivaut à une annulation du champ $\overrightarrow{Bo}$. De ce fait, la description du comportement de l'aimantation $\overrightarrow{M}$ peut ne pas tenir compte de $\overrightarrow{Bo}$.

Si l'on applique au système, pour un intervalle de temps bref t, un champ magnétique $\overrightarrow{B1}$, aligné sur l'axe X' et tournant autour de Z' (et donc de $\overrightarrow{Bo}$), avec une vitesse angulaire $\overrightarrow{\omega 1} = \overrightarrow{\omega o}$ et une fréquence V1 = Vo, ce champ $\overrightarrow{B1}$, fixe le long de l'axe tournant X' car de même vitesse de rotation, va imposer à l'aimantation $\overrightarrow{M}$, un mouvement de précession par rapport à $\overrightarrow{B1}$. $\overrightarrow{M}$ s'écarte de l'axe Z = Z' en formant un angle ϑ pour se rapprocher de l'axe Y' (figure 34).

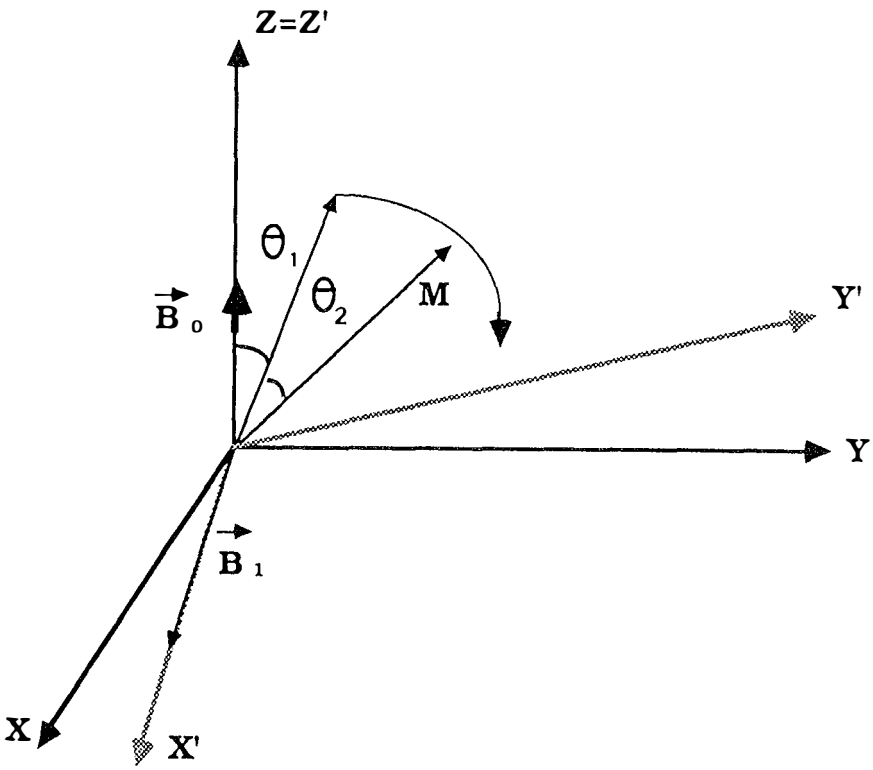


Figure 34

Variation de l'aimantation résultante dans un système nucléaire soumis à l'action d'un champ magnétique $\vec{Bo}$ et d'un champ magnétique tournant $\vec{B1}$ (d'après 46)

Si nous appliquons le champ $\vec{B1}$ pour un temps tp l'angle parcouru par la magnétisation $\vec{M}$ sera de :

$$\vartheta = \gamma |\vec{B1}| \, tp$$

L'angle $\widehat{MoM}$ est proportionnel à la durée de l'impulsion produite par $\vec{B1}$

Après interruption de l'impulsion ($|\vec{B1}| = 0$), les composantes de la magnétisation $\vec{M}$ tendent à revenir à leur position initiale.

La composante M1z (composante longitudinale) tend à revenir à sa valeur initiale Mz par un processus de transfert d'énergie ou de relaxation caractérisé par une constante de temps T1 égale au temps de relaxation spin-réseau.

La composante Mly tend à revenir à sa valeur initiale My = 0 par un mécanisme de relaxation analogue caractérisé par une constante de temps T2 correspondant au temps de relaxation spin-spin.

Les décroissances dans le temps des composantes de la magnétisation $\overrightarrow{M}$ peuvent être mesurées et transformées par un calcul mathématique appelée transformée de Fourier en un spectre relatif, tout à fait équivalent à celui obtenu en RMN en onde continue.

La décroissance de l'aimantation qui suit une loi de sinusoïde amortie de façon exponentielle (notée FID) (free induction decay) est fonction de l'état du système nucléaire étudié ; c'est pourquoi les spectres obtenus par transformation de Fourier, seront différents pour un système solide et liquide (figure 35).

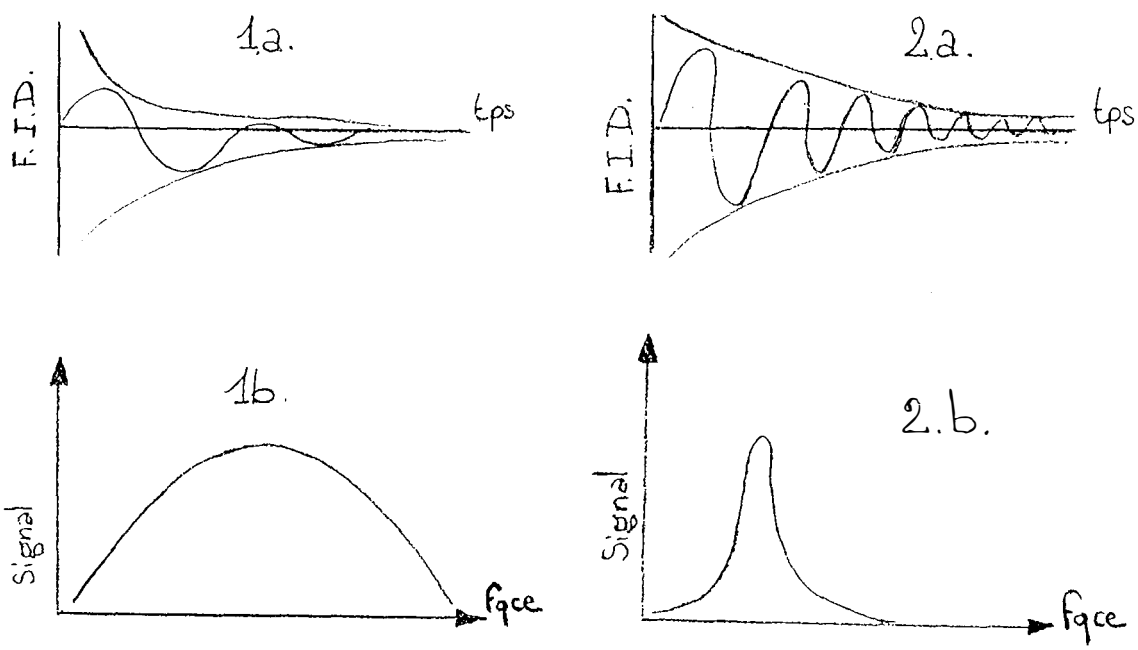


Figure 35

Décroissance de la magnétisation résultante en fonction du temps pour un échantillon solide (1a) et liquide (2a) et spectres correspondants obtenus par transformation de Fourier (1b solide, 2b liquide) (d'après 46)

7.2. PARAMETRES PHYSIQUES DE LA SPECTROSCOPIE PAR RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE (spectroscopie RMN)

Le signal RMN est caractérisé par cinq paramètres principaux, à savoir :

- les valeurs des fréquences de résonance caractéristiques des différents noyaux
- la constante de couplage spin-spin
- le temps de relaxation longitudinale ou spin-réseau
- le temps de relaxation transversale ou spin-spin
- l'intensité des signaux

Nous allons brièvement établir l'importance de ces différents paramètres avant de décrire l'appareillage nécessaire à l'acquisition des spectres de RMN.

7.2.1. Fréquence de résonance caractéristiques des différents noyaux

Des éléments différents (^{1}H, ^{13}C, ^{15}F, ^{31}P..) ou des isotopes du même élément (^{1}H et ^{2}H, ^{14}N et ^{15}N..) réalisent des conditions de résonance pour des valeurs différentes de la fréquence V.

Par ailleurs, pour un noyau donné, l'environnement électronique de la molécule dans laquelle il est incorporé interfère "localement", modifiant légérement l'action du champ magnétique $\overrightarrow{Bo}$ appliqué au noyau. C'est le phénomène de **déplacement chimique**.

La fréquence de résonance s'en trouvera de ce fait faiblement modifiée à son tour :

$$Vo = \frac{|\gamma \overrightarrow{Bo}| \times (1 - \sigma)}{2\pi}$$

σ est la **constante d'écran** qui dépend de l'environnement moléculaire. Pour les composés généralement étudiés, les valeurs de σ sont aux environs de 10^{-5} .On exprime généralement le déplacement chimique en partie par million (ppm) par rapport à la fréquence de référence.

Il en résulte que même des isomères d'une même molécule, du fait d'une différence de constante d'écran, vont avoir des fréquences de résonance différentes.

Le déplacement chimique peut être exprimé en ppm rappotées à un étalon de référence qui pour le ^{31}P est l'acide phosphorique H_3PO_4 ou la PCr.

7.2.2. Constante de couplage spin-spin

Soient 2 noyaux, respectivement notés A et B, présents dans la même molécule, caractérisés tous deux par un spin I = 1/2.

Sous l'action d'un champ magnétique $\overrightarrow{Bo}$, les moments magnétiques de A et de B peuvent s'orienter parallèlement ou antiparallèlement à la direction de $\overrightarrow{Bo}$.

Ainsi, le moment magnétique de A peut exercer un effet positif ou négatif sur la résonance de B en fonction de ses orientations possibles (figure 36).

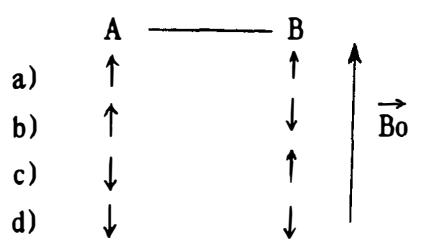


Figure 36

Orientations possibles des moments magnétiques nucélaires de deux noyaux A et B de spin = 1/2, dans la molécule A-B.

Il en résulte que le noyau B présentera donc, non plus la fréquence de résonance "attendue", mais une première fréquence de résonance plus élevée et une seconde fréquence de résonance plus basse.

L'écart entre les deux raies de résonance, exprimé en Hertz, est appelé **constante de couplage spin-spin** et mesure l'interaction des deux noyaux.

Cette propriété est utilisée si l'on dispose des spectres de très haute résolution pour déduire, grâce aux informations fournies par cette constante de couplage spin-spin, non seulement l'identité des molécules étudiées, mais encore leur structure précise, ce qui est particulièrement intéressant en chimie, biochimie ou en pharmacologie.

7.2.3. Temps de relaxation

- T1 ou temps de relaxation spin-réseau
- T2 ou temps de relaxation spin-spin

Nous avons déjà présenté ces paramètres dans la section consacrée à la RMN à impulsion. Ces temps caractérisent les phénomènes de relaxation. Ils sont liés à la nature même du milieu.

En général, plus la mobilité moléculaire est faible, plus le temps de relaxation est court.

Ainsi, dans un fluide, les temps de relaxation sont nettement plus longs que dans les solides.

Cette propriété est intéressante pour déterminer la localisation d'une molécule au sein d'un tissu et pour suivre l'évolution physiologique ou pathologique d'un tissu en fonction du temps.

Par ailleurs, le temps de relaxation spin-spin T2 est très important en spectroscopie RMN ^{31}P car la décroissance de l'aimantation dans le plan XY, et donc l'amortissement par rapport au temps du FID enregistré, dépendent étroitement de T2. Ceci a d'importantes conséquences sur la nature des molécules que la RMN ^{31}P peut étudier.

En pratique, dans les milieux biologiques, les valeurs rencontrées pour T1 sont de plusieurs centaines de millisecondes et pour T2 de quelques dizaines de millisecondes seulement. Ainsi, la décroissance de Mxy est beaucoup plus rapide que la restauration de Mz.

7.2.4. Largeur des pics

Après transformation de Fourier, au niveau du récepteur, les signaux obtenus acquièrent une représentation spectrale sous forme d'un (ou de plusieurs) pic(s).

Chaque pic, qui regroupe les signaux des noyaux ayant des fréquences de résonance commune, présente une surface proportionnelle au signal émis par ces noyaux, et donc à leur concentration dans l'échantillon étudié.

Par ailleurs, étant donné la perte de cohérence des spins à l'arrêt de l'onde électromagnétique de stimulation, ce dont témoigne T2, il n'existe pas une homogénéité parfaite des fréquences de résonance des noyaux à l'origine d'un même pic.

C'est pourquoi, il est recueilli pour un pic donné, non pas un seul vecteur correspondant à une seule fréquence de résonance,mais une "enveloppe" de petits vecteurs à fréquence de résonance très proche, ce qui explique la largeur des pics observée dans le spectre. On parle de largeur naturelle. Cette largeur est également le fruit de l'inhomogénéité du champ magnétique $\overrightarrow{Bo}$.

Cette propriété étroitement liée à T2 a des implications pratiques considérables. Ainsi, la relaxation est profondément affectée par la mobilité moléculaire. Une diminution de mobilité induit un raccourcissement de T2, ce qui a pour conséquence une largeur de pic accrue. De ce fait, le signal obtenu à partir d'atomes de ^{31}P appartenant à de volumineuses molécules (ADN, protéines..) produit des pics de largeur si importante qu'ils ne peuvent être mesurés par les techniques de spectroscopie RMN habituelles.

Pour la même raison, la majeure partie de l'ADP, liée à l'actine , n'est pas mesurable par cette technique.

L'ensemble de ces considérations nous permet de définir le profil des molécules que la spectroscopie RMN ^{31}P permet d'appréhender. Il s'agit de molécules :

- de poids moléculaire relativement bas
- présentes dans la cellule en solution libre
- présentes à des concentrations suffisantes (millimolaires pour le moins).

Ainsi, dans le cas du muscle squelettique peuvent être étudiés l'ATP, la phosphocréatine, les phosphates inorganiques, certains oses phosphates et occasionnellement des phosphodiesters.

7.3. SPECTROMETRES RMN

Selon leurs caractéristiques techniques et leurs possibilités d'application, on distingue :

- des spectromètres RMN haute résolution (étude des solutions)
- des spectromètres RMN moyenne résolution (RMN in vivo)

Les deux variétés de spectromètres peuvent être du type

- à onde continue
- par impulsion

7.3.1 Les spectromètres RMN haute résolution

Ils sont utilisés pour mesurer les déplacements chimiques, les constantes de couplage, le temps de relaxation sur des échantillons de faible dimension (1 à 2 cm3 de volume) en solution. Ils présentent la caractéristique d'utiliser un champ magnétique dont l'homogénéité, donnée par la valeur $\Delta \vec{Bo}/\vec{Bo}$ est de l'ordre de 10^{-8}

Grâce à l'utilisation récente d'aimants "supraconducteurs" générateurs de champs magnétiques très intenses (plus de 100 000 Gauss) et d'une très grande homogénéité, le pouvoir de résolution a été majoré, offrant des gains considérables de sensibilité : ces instruments permettent d'analyser des concentrations nucléaires très basses (jusqu'à 10^{-5} molaire pour le proton) d'où l'utilisation de cette technique pour

analyser non seulement les tissus, les lignées cellulaires, mais aussi les divers constituants individuels : protéines, sucres, phospholipides...

A l'échelle moléculaire, on peut obtenir des informations sur les noyaux individuels présents et donc sur la structure des molécules. On peut aussi déterminer des paramètres biochimiques tels les mécanismes de réaction et les paramètres cinétiques et thermodynamiques.

7.3.2. Les spectromètres RMN moyenne résolution pour les études "in vivo"

Ils utilisent des champs magnétiques d'intensité inférieure et de ce fait une fréquence d'irradiation plus faible. L'homogénéité du champ magnétique $\vec{Bo}$ est inférieure.

Ils sont employés pour mesurer les temps de relaxation T1 et T2 et les concentrations des espèces nucléaires.

Les spectromètres d'imagerie RMN appartiennent également à cette catégorie.

Grâce à la mesure des temps de relaxation, ces instruments permettent d'être renseigné sur la concentration des espèces nucléaires étudiées et sur leur dynamique moléculaire.

7.4. RMN du ^{31}P AVANTAGES DE CETTE SPECTROSCOPIE

7.4.1. Sensibilité intrinsèque

Le noyau ^{31}P, dont l'abondance naturelle est de 100 % est l'isotope commun du phosphore présent dans la matière vivante.

Bien que de sensibilité inférieure au proton du point de la vue de la RMN (6 % de celle-ci à champ constant), il présente un intérêt majeur. En effet, présent dans un

nombre restreint de composés cellulaires et tissulaires, à des concentrations supérieures à une demi millimole, il est facilement étudié par cette technique.

D'autre part, les composés phosphorylés jouent un rôle primordial dans l'économie des cellules et des tissus. Leur étude permet non seulement d'identifier ce tissu, mais encore et surtout d'étudier son métabolisme. L'organe, le tissu, la cellule demeurant intacts durant la durée de l'observation, la RMN permet d'appréhender les cinétiques mêmes de ces réactions métaboliques.

7.4.2. Gamme de déplacement chimique - Résolution

Les résonances des composés phosphorylés d'intérêt biologique sont dispersées sur une gamme d'environ 40 ppm, c'est-à-dire 4 fois plus étendue qu'en RMN du proton (20) ce qui améliore la résolution spectrale des signaux de métabolites de structure voisine.

7.4.3. Simplicité des spectres

Les noyaux de ^{31}P présents au sein des molécules biologiques sont en nombre toujours très limité par rapport aux autres noyaux. Comme par ailleurs les couplages homonucléaires (phosphore-phosphore) et hétéronucléaires (phosphore-proton) sont rares et facilement interprétables, les spectres résultants se réduisent souvent à une raie unique ou à un nombre limité de raies dont le déplacement chimique est caractéristique d'un métabolite donné.

7.4.4. Sensibilité à l'environnement

7.4.4.1. pH local

Le phosphate inorganique PO_4^{3-} présente une fréquence de résonance dont le déplacemnet chimique est fonction du pH.

$$pH = pKa + \log \frac{\sigma 1 - \sigma}{\sigma 1 - \sigma 2}$$

avec $\sigma 1$ = déplacement chimique de la forme ionisée $H_2PO_4^-$
$\sigma 2$ = déplacement chimique de la forme ionisée HPO_4^{2-}
σ = déplacement chimique observé

On peut donc tracer une courbe de titration

$\sigma = f(pH)$ d'un groupement phosphate (20, 172, 188, 204)

Ainsi, à l'aide d'une courbe de référence peut-on déterminer le pH apparent du milieu environnant le phosphate étudié (par ex. pH, d'une cellule, d'un tissu)

7.4.4.2. *Chélation avec les ions métalliques*

La présence de certains ions (force ionique) est reflétée par des modifications spécifiques des positions des résonances des groupements phosphates.

Ainsi, par exemple, pour l'ATP, peut-on reconnaître l'existence d'une complexation du Mg^{++} sur le phosphate en position ß et calculer la proportion d'ATP complexé (20, 172)

7.4.5. Sensibilité à la conformation

La structure fine des résonances des noyaux de phosphore est déterminée par des couplages homonucléaires et hétéronucléaires stéréosensibles (20).

La très grande sensibilité de la valeur du déplacement chimique en fonction de l'angle $(\widehat{O\text{-}P\text{-}O})$ et de ses déformations éventuelles permet d'identifier des distorsions conformationnelles discrètes au moment de la formation de complexes ou de la fixation de métabolites phosphorylés sur des structures subcellulaires (20).

7.4.6. Paramètres de relaxation

Les mécanismes de la relaxation des noyaux de phosphore dans les composés phosphorylés sont complexes et font intervenir une contribution due à l'anisotropie de déplacement chimique (20)

Les temps de relaxation demeurent sensibles à la mobilité et à l'environnement. On observe ainsi des largeurs de raie des signaux très variables, reflétant des degrés de mobilité nettement différents. Cette situation est très avantageuse, entrainant une simplification des spectres ainsi réduits aux seuls signaux des métabolites phosphorylés libres ou faiblement liés et s'échangeant rapidement avec l'ensemble des métabolites libres.

TEMPS RMN VARIABLES	REPOS	EXC 1-2	EXC 3-4	EXC 5-6	EXC 7-8	EXC 9-10	REC 1	REC 2	REC 3-4	REC5-6	REC 7-8	REC 9-10
PH	7,145 ±0,041	6,928 ±0,061	6,779 ±0,092	6,905 ±0,076	6,975 ±0,058	7,011 ±0,042	6,985 ±0,068	7,060 ±0,081	7,065 ±0,097	7,072 ±0,076	7,102 ±0,096	7,067 ±0,051
PCr/Pi	15,038 ±3,978	4,193 ±1,113	3,643 ±1,061	3,574 ±1,055	3,199 ±1,046	3,356 ±1,169	5,376 ±1,937	12,686 ±11,034	10,995 ±2,228	15,178 ±7,52	15,884 ±6,636	15,697 ±2,653
PCr/(PCr+Pi)	0,933 ±0,020	0,797 ±0,052	0,768 ±0,077	0,765 ±0,076	0,743 ±0,078	0,750 ±0,079	0,829 ±0,047	0,899 ±0,040	0,914 ±0,016	0,928 ±0,024	0,931 ±0,025	0,939 ±0,010
PCr/ATP	3,108 ±0,338	2,553 ±0,392	2,364 ±0,407	2,602 ±0,264	2,712 ±0,442	2,632 ±0,194	2,933 ±0,334	2,832 ±0,258	3,089 ±0,430	3,251 ±0,253	3,076 ±0,371	3,172 ±0,282
PDE/ATP	0,043 ±0,032	0,146 ±0,067	0,251 ±0,113	0,259 ±0,091	0,224 ±0,098	0,200 ±0,118	0,144 ±0,070	0,091 ±0,069	0,088 ±0,071	0,100 ±0,079	0,058 ±0,041	0,063 ±0,030
Pi/ATP	0,220 ±0,055	0,645 ±0,169	0,721 ±0,306	0,825 ±0,361	0,947 ±0,361	0,905 ±0,381	0,614 ±0,207	0,325 ±0,140	0,292 ±0,070	0,255 ±0,093	0,231 ±0,096	0,208 ±0,045
Pm/ATP	0,061 ±0,030	0,092 ±0,067	0,065 ±0,040	0,065 ±0,051	0,106 ±0,094	0,108 ±0,119	0,095 ±0,100	0,090 ±0,074	0,158 ±0,074	0,135 ±0,069	0,122 ±0,090	0,120 ±0,040

ANNEXE 1: RESULTATS DES DIVERSES VARIABLES OBTENUES EN SPECTROSCOPIE RMN DU PHOSPHORE 31 DANS LE GROUPE TEMOIN

TEMPS RMN VARIABLES	REPOS	EXC 1-2	EXC 3-4	EXC 5-6	EXC 7-8	EXC 9-10	REC 1	REC 2	REC 3-4	REC5-6	REC 7-8	REC 9-10
PH	7,048 ±0,047	6,873 ±0,060	6,650 ±0,108	6,802 ±0,076	6,938 ±0,068	7,025 ±0,064	6,928 ±0,057	7,002 ±0,039	6,973 ±0,061	6,994 ±0,056	7,009 ±0,051	6,980 ±0,076
PCr/Pi	11,141 ±3,325	3,399 ±0,762	2,884 ±0,764	2,772 ±0,589	2,527 ±0,463	2,501 ±0,456	3,656 ±0,792	5,980 ±2,506	6,740 ±1,042	7,905 ±1,803	8,646 ±1,708	9,586 ±2,767
PCr/(PCr+Pi)	0,913 ±0,018	0,766 ±0,037	0,735 ±0,040	0,729 ±0,037	0,712 ±0,038	0,710 ±0,035	0,780 ±0,033	0,845 ±0,034	0,868 ±0,017	0,883 ±0,026	0,893 ±0,019	0,899 ±0,026
PCr/ATP	3,111 ±0,278	2,448 ±0,292	2,512 ±0,316	2,599 ±0,324	2,616 ±0,265	2,682 ±0,433	2,925 ±0,404	2,997 ±0,466	3,368 ±0,447	3,353 ±0,433	3,239 ±0,384	3,395 ±0,478
PDE/ATP	0,053 ±0,029	0,255 ±0,072	0,377 ±0,069	0,396 ±0,072	0,296 ±0,078	0,303 ±0,103	0,221 ±0,060	0,152 ±0,083	0,147 ±0,071	0,119 ±0,068	0,115 ±0,049	0,113 ±0,054
Pi/ATP	0,301 ±0,076	0,755 ±0,185	0,910 ±0,178	0,978 ±0,218	1,068 ±0,197	1,106 ±0,246	0,841 ±0,227	0,550 ±0,148	0,513 ±0,104	0,450 ±0,132	0,386 ±0,074	0,382 ±0,118
Pm/ATP	0,061 ±0,076	0,128 ±0,170	0,097 ±0,107	0,102 ±0,129	0,146 ±0,121	0,143 ±0,104	0,142 ±0,080	0,166 ±0,119	0,181 ±0,098	0,193 ±0,163	0,151 ±0,132	0,169 ±0,097

ANNEXE 2: RESULTATS DES DIVERSES VARIABLES OBTENUES EN SPECTROSCOPIE RMN DU PHOSPHORE 31 DANS LE GROUPE HYPO 2S

TEMPS RMN VARIABLES	REPOS	EXC 1-2	EXC 3-4	EXC 5-6	EXC 7-8	EXC 9-10	REC 1	REC 2	REC 3-4	REC5-6	REC 7-8	REC 9-10
PH	7,065 ±0,042	6,878 ±0,117	6,642 ±0,134	6,709 ±0,082	6,884 ±0,081	6,954 ±0,076	6,935 ±0,062	6,920 ±0,070	6,960 ±0,058	6,952 ±0,049	6,985 ±0,058	6,989 ±0,060
PCr/Pi	12,297 ±1,857	3,174 ±0,325	2,868 ±0,512	2,686 ±0,314	2,659 ±0,501	2,609 ±0,452	3,879 ±0,911	5,001 ±1,310	6,180 ±1,986	8,162 ±3,069	8,027 ±1,986	9,151 ±2,293
PCr/(PCr+Pi)	0,923 ±0,011	0,759 ±0,020	0,737 ±0,037	0,727 ±0,023	0,722 ±0,717	0,718 ±0,036	0,787 ±0,044	0,827 ±0,028	0,868 ±0,017	0,883 ±0,025	0,883 ±0,028	0,896 ±0,024
PCr/ATP	3,491 ±0,328	2,993 ±0,320	2,893 ±0,330	2,953 ±0,453	3,169 ±0,366	2,972 ±0,361	3,537 ±0,632	3,681 ±0,708	3,901 ±0,410	3,855 ±0,419	3,895 ±0,538	3,948 ±0,426
PDE/ATP	0,083 ±0,068	0,346 ±0,102	0,503 ±0,100	0,499 ±0,116	0,466 ±0,103	0,397 ±0,109	0,349 ±0,139	0,293 ±0,164	0,229 ±0,132	0,161 ±0,073	0,182 ±0,087	0,131 ±0,077
Pi/ATP	0,291 ±0,055	0,950 ±0,111	1,046 ±0,250	1,104 ±0,152	1,219 ±0,196	1,164 ±0,188	0,962 ±0,270	0,775 ±0,224	0,686 ±0,184	0,516 ±0,135	0,515 ±0,142	0,456 ±0,111
Pm/ATP	0,039 ±0,024	0,088 ±0,059	0,086 ±0,104	0,056 ±0,059	0,074 ±0,042	0,123 ±0,094	0,102 ±0,076	0,149 ±0,064	0,144 ±0,058	0,165 ±0,055	0,133 ±0,072	0,093 ±0,055

ANNEXE 3: RESULTATS DES DIVERSES VARIABLES OBTENUES EN SPECTROSCOPIE RMN DU PHOSPHORE 31 DANS LE GROUPE HYPO 4S

TEMPS RMN VARIABLES	REPOS	EXC 1-2	EXC 3-4	EXC 5-6	EXC 7-8	EXC 9-10	REC 1	REC 2	REC 3-4	REC5-6	REC 7-8	REC 9-10
PH	7,017 ±0,067	6,865 ±0,086	6,603 ±0,144	6,706 ±0,121	6,873 ±0,083	6,975 ±0,055	6,943 ±0,040	6,945 ±0,051	6,952 ±0,068	6,977 ±0,094	6,945 ±0,085	7,021 ±0,071
PCr/Pi	11,915 ±4,332	3,271 ±0,695	2,898 ±0,773	2,898 ±0,770	2,662 ±0,588	2,545 ±0,606	3,163 ±0,576	4,736 ±1,194	6,497 ±1,768	6,908 ±1,592	7,710 ±2,334	7,863 ±1,773
PCr/(PCr+Pi)	0,915 ±0,022	0,757 ±0,055	0,730 ±0,069	0,731 ±0,065	0,717 ±0,062	0,708 ±0,063	0,754 ±0,039	0,817 ±0,045	0,859 ±0,032	0,868 ±0,026	0,878 ±0,028	0,883 ±0,020
PCr/ATP	3,251 ±0,238	2,575 ±0,283	2,656 ±0,477	2,509 ±0,342	2,755 ±0,296	2,578 ±0,437	2,750 ±0,328	3,027 ±0,616	3,143 ±0,527	3,342 ±0,551	3,257 ±0,613	3,309 ±0,289
PDE/ATP	0,112 ±0,060	0,326 ±0,079	0,458 ±0,169	0,430 ±0,101	0,421 ±0,149	0,365 ±0,114	0,331 ±0,105	0,234 ±0,104	0,218 ±0,096	0,196 ±0,080	0,187 ±0,106	0,145 ±0,075
Pi/ATP	0,298 ±0,073	0,852 ±0,325	1,017 ±0,441	0,960 ±0,437	1,114 ±0,389	1,092 ±0,430	0,912 ±0,264	0,694 ±0,265	0,533 ±0,201	0,506 ±0,128	0,452 ±0,140	0,442 ±0,102
Pm/ATP	0,053 ±0,035	0,129 ±0,079	0,084 ±0,073	0,115 ±0,095	0,155 ±0,109	0,116 ±0,093	0,152 ±0,072	0,119 ±0,087	0,145 ±0,068	0,155 ±0,117	0,130 ±0,070	0,099 ±0,048

ANNEXE 4: RESULTATS DES DIVERSES VARIABLES OBTENUES EN SPECTROSCOPIE RMN DU PHOSPHORE 31 DANS LE GROUPE HYPO 6S

UNIVERSITE DE LIEGE
Section ... BIBLIOTHEQUE

BIBLIOGRAPHIE

UNIVERSITE ... BIBLIOTHEQUE Section de Médecine

1. **ADAMS R.D., DELONG G.R.**
Thyroid diseases : disorders that cause hypothyroidism. The neuromuscular system and brain
in : INGBAR S.H., BRAVERMAN L.E. Eds Werner's : the thyroid. A fundamental and clinical text. Philadelphia, LIPPINCOTT COMPANY, Fifth edition, 1986, pp 1168-1180

2. **AL-AMOOD W.S., BULLER A.J., POPE R.**
Long-term stimulation of cat fast twitch skeletal muscle
Nature, 1973, 244, 225-227

3. **ARGOV Z., BANK W.J., MARIS J., PETERSON P., CHANCE B.**
Bioenergetic heterogeneity of human mitochondrial myopathies
Phosphorus magnetic resonance spectroscopy study
Neurology, 1987, 37, 257-262

4. **ARGOV Z., MARIS J., DAMICO L., MORUDA M., ROTH Z., LEIGH J.S. Jr, CHANCE B.**
Continuous, graded steady-state muscle work in rats studied by in vitro 31P-NMR
J. Appl. Physiol., 1987 b, 63, 1428-1433

5. **ARGOV Z., RENSHAW P.F., BODEN B., WINOKW A., BANK W.J.**
Effects of thyroid hormones on skeletal muscle bioenergetics in vivo phosphorus-31 magnetic resonance spectroscopy study of humans and rats
Clin. Invest., 1988, 1695-1701

6. **ARNOLD D.L., BORE P.J., RADDA G.K.**
Excessive intracellular acidosis of skeletal muscle in a patient with post-viral exhaustion/fatigue syndrome
Lancet, 1984, 1, 1367-1369

7. **ARNOLD D.L., MATTHEWS P.M., RADDA G.K.**
Metabolic recovery after exercice and the assessement of mitochondrial function in vivo in human skeletal muscle by means of 31 P MNR
Magn. Reson. Med., 1984, 1, 307-315

8. **ARNOLD D.L., TAYLOR D.J., RADDA G.K.**
Investigation of human mitochondrial myopathies by phosphorus magnetic resonance spectroscopy
Ann. Neurol., 1985, 18, 189-196

9. **ASTRAND P.O., RODAHL K., LACOUR J.R.**
Précis de physiologie de l'exercide musculaire
2ème édition, Masson Ed., Paris, New-York, Barcelone, Milan, 1980, 507 p.

10. **ASTROM K.E., KUGELBERG E., MULLER R.**
Hypothyroid myopathy
Arch. Neurol., 1961, 5, 472-482

11. **BALDWIN K.M., ERNST S.B., HERRICK R.E., HOOKER A.M., MULLIN W.J.**
Exercice capacity and cardiac function in trained and untrained thyroid deficient rats
J. App. Physiol. : Respirat. Environ. Exercice Physiol., 1980, 49, 1022-26

12. **BALDWIN K.M., HOOKER A.M., HERRICK R.E., SCHRADER L.F.**
Respiratory capacity and glycogen depletion in thyroid-deficient muscle
J. App. Physiol. : Respirat. Environ. Exercice Physiol., 1980, 49, 102-106

13. **BANK W., CHANCE B., ELEFF S., WARNEL R.**
31P NMR studies of muscle metabolism in PFK deficiency
Neurology, 1983, 33 (suppl. 2), 147

14. **BANK W.J., DI MAURO S., BONILLA E., CAPUZZI D.M., ROWLAND L.P. (165)**
A disorder of muscle lipid metabolism and myoglobinuria
New. Engl. J. Med., 1975, 292, 443-449

15. **BARANY M., CLOSE R.**
The transformation of myosin in cross-innervated rat muscles
J. Physiol., 1971, 213, 455-474

16. **BARKER S.B.**
Physiological activity of thyroid hormones and analogues
in : The thyroid gland 1. Butterworth and Co Ltd 1964, pp. 199-236

17. **BERGOVIGNAN M., VITAL C., BATAILLE J.M.**
Les myopathies hypothyroidiennes : aspects cliniques et histopathologiques
Presse Med., 1967, 75, 1551-1556

18. **BERGSETH S., LUND H., POISSON J.P., BREMER J., VAN THIENEN W.D., DAVIS E.J.**
Carnitine palmitoyl transferase : activation and inactivation in liver mitochondria from fed, fasted, hypo and hyperthyroid rats
Biochem. Biophys. Acta. 1986, 876, 551-558

19. **BERNARD A.M., DE CERTAINE J.D., LE JEUNE J.J.**
Résonance magnétique nucléaire. Applications biomédicales
Masson Ed. Paris, 1988. 264 p.

20. **BERNARD M., CANIONI P., COZZONE P.J.**
Etude du métabolisme cellulaire in vivo par résonance magnétique nucléaire du phosphore 31
Biochimie, 1983, 65, 449-470

21. **BESSMAN S.P., GEIGER P.J.**
Transport of energy in muscle. The phosphorylcreatine shuttle
Science, 1981, 211, 448-452

22. **BITTL J.A., BALSCHI A., INGWALL J.S.**
Contractile failure and high energy phosphate turnover during hypoxia : 31 P - NMR surface coil studies in living rat
Cir. Res., 1987, 60, 871-878

23. **BITTL J.A., INGWALL J.S.**
Reaction rate of creatine kinase and ATP synthesis in the isolated rat heart
J. Biol. Chem, 1985, 260, 3512-3517

24. **BLASS J.P., CEDERBAUM S.D., GIBSON G.E. (156)**
Clinical and metabolic abnormalities accompanying deficiencies in pyruvate oxidation
In : HOMMES F.A. and VAN DEN BERG C.J., eds : Normal and pathological development of energy metabolism. London, Wiley and Sons (1975) pp. 193-210

25. **BOLLAERT P.E.**
Observations personnelles
Sous presse.

26. **BRONK J.R.**
The nature of the energy requirement for amino-acid incorporation byisolated mitochondria and its significance for thyroid hormone action
Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 1963, 50, 524-526

27. **BROOKE M.H., ENGEL W.K.**
The histographic analysis of human muscle biopsies with regard to fiber types. 1. adulte male and female
Neurology, 1969, 19, 221-233

28. **BROOKE M.H., ENGEL W.K. (126)**
The histographic analysis of human muscle biopsies with regard to fiber types. 2. Diseases of the upper and lower motor neuron
Neurology, 1969, 19, 378-393

29. **BROWN J.G., BATES P.C., HOLLIDAY M.A., MILLWARD D.J. (111)**
Thyroid hormones and muscle protein turover. The effect of thyroid hormone deficiency and replacement in thyroidectomized and hypophysectomized rats
Biochem. J., 1981, 194, 771-782

30. **BULLER A.J., ECCLES J.C., ECCLES R.M.**
Interactions between motoneurones and muscles in respect of the characteristic speeds of their responses
J. Physiol., 1960, 150, 417-439

31. **BULLER A.J., MOMMAERTS W.F.H.M., SERAYDARIAN K.**
Enzymic properties of myosin in fast and slow twitch muscles of the cat following cross-innervation
J. Physiol., 1969, 205, 581-597

32. **BURACK R., EDWARDS R.H.T., GREEN M., JONES N.L.**
The response to exercice before and after treatment of myxedema with thyroxine
J. Pharmacol. Exp. Ther., 1971, 176, 212-219

33. **BURT C.T., GLONEK T., BARANY M.**
31 P nuclear magnetic resonance detection of unexpected phosphodiesters in muscle
Biochemistry, 1976, 15, 4850-4853

34. **BURT C.T., GLONEK T., BARANY M.**
Analysis of phoshate metabolites, intracellular pH and the state of adenosine triphosphate in intact muscle by phosphorus nuclear magnetic resonance
J. Biol. Chem., 1976, 251, 2584-2591

35. **BURT C.T., KOUTCHER J., ROBERTS J.T., LONDON R.E., CHANCE B**
Magnetic resonance spectroscopy of the musculoskeletal system
Radiol. Clin. North Am., 1986, 24, 321-331

36. **BURT C.T., PLUSKAL M.G., SRETER F.A.**
Generation of phosphodiesters during fast to slow muscle transformation. A 31 P NMR study
Biophys. Acta, 1982, 721, 492-494

37. **BURT C.T., RIBOLOW H.J.**
A hypothesis : Non cyclic phosphodiesters may play a role in menbrane control
Biochem Med., 1984, 31, 21-30

38. **CHALOVICH J.M., BURT C.T., COHEN S.M.**
The identification of an unknown 31P NMR resonance from dystrophic chicken as L-serine ethanolamine phosphodiester
Arch. Biochem. Biophys., 1977, 182, 683-689

39. **CHANCE B.**
Applications of 31P NMR to clinical biochemistry
Ann. N.Y. Acad. Sci., 1984, 428, 318-332

40. **CHANCE B., ELEFF S., BANK W., LEIGH J.S., WARNELL J.R., WARNELL R.P.**
NMR studies of control of mitochondrial function in phosphofructokinase-deficient human skeletal muscle
Proc. Natl. Acad. Sci (USA), 1982, 79, 7714-7718

41. **CHANCE B., ELEFF S., LEIGH J.S., SOKOLOW D., SAPEGA A.**
Mitochondrial regulation of phosphocreatine/inorganic phosphate ratios in exercising human muscle : a gated 31P-NMR study
Proc. Natl. Acad. Sci (USA), 1981, 78, 6714-6718

42. **CHANCE B., LEIGH J.S., CLARKE B.J.**
Controle of oxidative metabolism and oxygen delivery in human skeletal muscle : a study state analysis of the work/energy cost transfer function
Procl. Natl. Acad. Sci., (USA), 1985, 82, 8384-8388

43. **CHANCE B., LEIGH J.S., KENT J., Mc KULLY K., NIOKA S., CLARK B.J., MARIS J.M., GRAHAM T.**
Multiple controls of oxidative metabolism in living tissues as studied by phosphorus magnetic resonance.
Procl. Natl. Acad. Sci., (USA), 1986, 83, 9458-9462

44. **CHANCE B., YOUNKIN D.P., KELLY R., BANK W.J., BERKOWITZ H.D., ARGOV Z., DONLON E., BODEN B., Mc CULLY K., KENNAWAY N.**
Magnetic resonance spectroscopy of normal and diseased muscle
Am. J. Med. Gen., 1986, 25, 659-679

45. **CHANEY W.C.**
Tendon reflexes in myxedema : a valuable aid in diagnosis
J. Amer. Med; Ass., 1924, 82, 2013-2016

46. **CONTI F., DELFINI M., DI COCCO M.E., PARASASSI T.**
Introduction à la résonance magnétique nucléaire en médecine
Maloine S.A. Editeur, Paris, 1984, 139 p.

47. **DARRE H., MOLLARET P., ZAGDOUN Mme, OEMICHEN Mlle**
Hypertrophie musculaire généralisée du nourrisson et hypothyroïdie congénitale (syndrome de Debré-Semelaigne)
Rev. Neurol., 1939, 72, 249-281

48. **DAWSON M.J., GADIAN D.G., WILKIE D.R.**
Contraction and recovery of living muscle studied by 31P nuclear magnetic resonance
J. Physiol., 1977, 267, 703-735

49. **DAWSON M.J., GADIAN D.G., WILKIE D.R.**
Muscular fatigue investigated by phosphorus nuclear magnetic resonance
Nature, 1978, 274, 861-866

50. **DAWSON M.J., GADIAN D.G., WILKIE D.R.**
Mechanical relaxation rate and metabolism studied in fatiguing muscle by phosphorus nuclear magnetic resonance
J. Physiol. Lond., 1980, 299, 465-484

51. **DEBRE R., SEMELAIGNE G.**
Nourrisson ayant l'aspect d'une myopathie pseudohypertrophique généralisée
Bull. Soc. Ped. Paris, 1925, 23, 542-544

52. **DEBRE R., SEMELAIGNE G.**
Hypertrophie généralisée du petit enfant
Bull. Soc. Ped. Paris, 1934, 33, 699-706

53. **DESGREZ A., BITTOUN J., IDY-PERETTI I.**
Bases physiques de l'IRM
Masson Ed. Paris, 1989, 102 p.

54. **DE VIVO D.C., HAYMOND M.W., LECKIE M.P., BUSSMANN Y.L., Mc DOUGAL D.B., PAGLIARA A.S.**
The clinical and biochemical implications of pyruvate carboxylase deficiency
J. Clin. Endocr. Metab., 1977, 45, 1281-1296

55. **DEYKIN D., VAUGHAN M.**
Release of free fatty acids by adipose tissue from rats treated with triiodothyronine or propylthiouracil
J. Lipid. Res., 1963, 4, 200-203

56. **DI MAURO S.**
Metabolic myopathies
In : Handbook of Clinical Neurology. Part II Diseases of Muscles,
VINKEN P.J., BRUYN G.W. Eds
Amsterdam, North Holland Publishing Company, 1979, pp. 175-234

57. **DI MAURO S., BONILLA E., LEE C.P., SCHOTLAND D.L., SCARPA A., CONN H., CHANCE B.**
Luft's disease : further biochemical and ultrastructural studies of skeletal muscle in the second case
J. Neurol. Sci., 1976, 27, 217-232

58. **DI MAURO S., DI MAURO P.M.**
Muscle carnitine palmityl transferase deficiency and myoglobinuria
Science, 1973, 182, 929-931

59. **DIMITRIADIS G.D., LEIGHTON B., PARRY-BILLINGS M., WEST D., NEWSHOLME E.A.**
Effects of hypothyroidism on the sensitivity of glycolysis and glycogen synthesis to insuline in the soleus muscle of the rat
Biochem J., 1989, 257, 369-373

60. **DI PRAMPRERO P.E.**
La consommation d'oxygène au cours des phases transitoires
In : RIEU M.
Bioénergétique de l'exercice musculaire et de l'entraînement physique
Paris : Presses Universitaires de France, 1988, pp. 245-270

61. **DI PRAMPRERO P.E.**
Les sources d'énergie de la contraction musculaire
In : RIEU M.
Bioénergétique de l'exercice musculaire et de l'entraînement physique
Paris : Presses Universitaires de France, 1988, pp. 73-88

62. **DORAN G.R., WILKINSON J.H.**
The origin of the elevated activities of creatine kinase and other enzymes in the sera of patients with myxoedema
Clin. Chim. Acta, 1975, 62, 203-211

63. **DREYFUS G.**
Les syndromes myothyroïdiens. Trente exposés sur les sujets actuels d'endocrinologie
Masson Ed. Paris, 1956, 43-56

64. **DREYFUS G., ZARA M., GALI P.**
Les syndromes musculaires au cours de l'hypothyroïdie acquise de l'adulte
Presse Méd., 1954, 62, 1553-54

65. **DUBOC D., JEHENSON P., TRAN DINH S., MARSAC C., SYROTA A., FARDEAU M. (89)**
Phosphorus NMR spectroscopy study of muscular enzyme deficiencies involving glycogenolysis and glycolysis
Neurology, 1987, 37, 663-671

66. **DUBOWITZ V., BROOKE M.H., NEVILLE H.E.**
Muscle biopsy : a modern approach
Saunders Ed. London, Philadelphia, Toronto, 1973, 475 p.

67. **DUC M.**
Les syndromes myothyroïdiens. Du réflexogramme achilléen aux myopathies thyroïdiennes
Thèse Méd. Nancy, 1964, n° 46, 251 p.

68. **DUC M., DUC M.L.**
Le réflexogramme achilléen. Intérêt dans les affections endocriniennes et métaboliques. Paris. Doin éd., 1965, 119 p.

69. **DUC M.L.**
Le réflexogramme achilléen. Intérêt dans les affections endocriniennes et métaboliques
Thèse Méd. Nancy, 1965, 168 p.

70. **EDWARDS R.H.T., DAWSON M.J., WILKIE D.R., GORDON R.E., SHAW D.**

Clinical use of nuclear magnetic resonance in the investigation of myopathy
Lancet. 1982, 1, 725-731

71. **EDWARDS R.H.T., WILKIE D.R., DAWSON M.J., GORDON R.E., SHAW D.**

Measurement of muscle pH and intermediary metabolism by 31P topical magnetic resonance (TMR) in normal subjects and patients with myopathy
Eur. J. Clin. Invest., 1982, 12, 57

72. **ELEFF S., KENNAWAY N.G., BUIST R.M.**
31 P RMN study of improvement in oxydative phosphorylation by vitamins K3 and C in a patient with a defect in electron transport at complex III in skeletal muscle
Proc. Natl. Acad. Sci (USA), 1984, 81, 3529-3533

73. **ENGEL A.G., BANKER B.K.**
Myology
Basic and clinical, New-York, Mc Graw-Hill book Company, 1986, 2478 p.

74. **EPSTEIN F.H.**
Nuclear magnetic resonance. A new tool in clinical medicine
N. Engl. J. Med., 1981, 304, 1360-1361

75. **EVERTS M.E., CLAUSEN T.**
The effects of thyroid hormone on Na+-K+ transport in resting and stimulated rat skeletal muscle
Am. J. Physiol., 1988, 255, E604-E612

76. **EVERTS M.E., VAN HARDEVELD C., TER KEURS H.E.D.J., KASSENAAR A.A.H.**
Force development and metabolism in skeletal muscle of euthyroid and hypothyroid rats
Acta Endocrinol., 1981, 97, 221-225

77. **FANBURG B.L.**
Calcium transport by skeletal muscle sarcoplasmic reticulum in the hypothyroid rat
J. Clin. Invest., 1968, 47, 2499-2506

78. **FESSEL W.J.**
Myopathy of hypothyroidism
Ann. Rheum. Dis., 1968, 27, 590-596

79. **FLAIM K.E., LI J.B., JEFFERSON L.S.**
Effects of thyroxine on protein turnover in rat skeletal muscle
Am. J. Physiol., 1978, 235, E231-E236

80. **FOX E.L., MATHEWS D.K., (255)**
traduit par Peronnet F.
Bases physiolotgiques de l'activité physique
Paris, Vigot Ed., 1984, pp. 9-36

81. **FUNDARO A., MOLINENGO L., CASSONE M.C.**
The transition from a fixed ratio to a fixed interval schedule of reinforcement in hypo and hyper thyroid rats
Pharmacol. Res. Comm., 1989, 17, 463-470

82. **GADIAN D.G.**
Methods in 31P and 1H NMR spectroscopy
Therapie, 1987, 42, 463-465

83. **GADIAN D.G., RADDA G.K., ROSS B.D., HOCKADAY J., BORE P.J., TAYLOR D., STYLES P.**
Examination of a myopathy by phosphorus nuclear magnetic resonance
Lancet, 1981, 2, 774-775

84. **GARCIN R., ROUQUES L.**
Syndrome thomsenien et syndrome myxoedémateux cliniquement associés. Début simultané et évolution parallèle
Bull. Soc. Med. Hop. Paris, 1939, 55, 1005-1008

85. **GARLICK P.B., BROWN T.R., SULLIVAN R.H., UGURBIL K.**
Observation of a second phosphate pool in the perfused heart by 31P NMR ; is this the mitochrondrial phosphate ?
J. Mol. Cell. Cardiol., 1983, 15, 855-858

86. **GELLER S.**
Statistique
3ème ed. Paris : Masson, 1979, 222 p.

87. **GILBERT C. , KRETZSCHMAR K.M., WILKIE D.R., WOLEDGE R.C.**
Chemical change and energy output during muscular contraction
J. Physiol., 1971, 218, 163-193

88. **GOLDMAN J., MATZ R., MORTIMER R., FREEMAN R.**
High elevations of creatine phosphokinase in hypothyroidism
An isoenzyme analysis
JAMA, 1977, 238, 325-326

89. **GOLLNICK P.D., IANUZZO C.D.**
Hormonal deficiencies and the metabolic adaptations of rats to training
Am. J. Physiol., 1972, 223, 2, 278-282

90. **GONATAS N.K., PEREZ M.C., SHY G.M., EVANGELISTA I.**
Central "core" disease of skeletal muscle
Am. J. Pathol., 1965, 47, 503-524

91. **GOODMAN H.M., BRAY G.A.**
Role of thyroid hormones in lipolysis
Am. J. Physiol., 1966, 210, 1053-1058

92. **GRAIG F.A., CRISPIN SMITH J.**
Serum creatine phosphokinase activity in altered thyroid states
J. Clin. Endocr., 1965, 25, 723-731

93. **GRAY S.D., STAUB N.C.**
Resistance to blood flow in leg muscles of dog during tetanic isometric contraction
Am. J. Physiol., 1967, 213, 677-682

94. **GUSTAFSSON R., TATA J.R., LINDBERG O., ERNSTER L.**
The relationship between the structure and activity of rat skeletal muscle mitrochondria after thyroidectomy and thyroid hormone treatment
J. Cell. Biol., 1965, 26, 555-572

95. **GYULAI L., ROTH Z., LEIGH J.S., CHANCE B.**
Bioenergetic studies of mitrochondrial oxydative phosphorylation using 31 phosphorus NMR
J. Biol. Chem., 1985, 260, 3947-3954

96. **HAFNER R.P., LEAKE M.J., BRAND M.D.**
Hypothyroidism in rats decreases mitochondrial inner membrane cation permeability
Febs Lett, 1989, 248, 175-178

97. **HAGUENAU J., LEFEBVRE J., KAUFFMANN H.**
Etude clinique, électrique et humorale d'un syndrome endocrino-musculaire. Hypothyroïdie, galvanotonus généralisé, modification de la cholinestérase sanguine
Bull. Soc. Med. Hop. Paris, 1939, 55, 994-1004

98. **HANDS L.J., BORE P.J., GALLOWAY G., MORRIS P.J., RADDA G.K.**
Muscle metabolism in patients with peripheral vascular disease investigated by ^{31}P nuclear magnetic resonance spectroscopy
Clin. Sci., 1986, 71, 283-290

99. **HARDING A.E., HOLT I.J.**
Mitochondrial myopathies
Br. Med. Bull., 1989, 45, 3, 760-771

100. **HARRIS R.C., EDWARDS R.H.T., HULTMAN E., NORDESJÖ L.O., NYLIND B., SAHLIN K.**
The time course of phosphorylcreatine resynthesis during recovery of the quadriceps muscle in man
Pflügers Arch., 1976, 367, 137-142

101. **HARTEMANN P.**
Muscle et thyroïde
In ZARA M. La Thyroïde, 3 vol. Expansion scientifique française Ed., Paris 1972, 3, 27-48

102. **HARTEMANN P.**
La fonction musculaire dans les endocrinopathies
Rev. Franç. Endocrinol. Clin., 1983, 24, 367-370

103. **HERBERT V.**
Thyroid diseases : disorders that cause hypothyroidism : the blood
In : INGBAR S.H., BRAVERMAN L.E. Eds Werner's. The Thyroid. A fundamental and clinical text. Philadelphia, Lippincott Company, Fifth edition, 1986, 1162-1168

104. **HITZIG B.M., PRICHARD J.W., KANTOR H.L., ELLINGTON W.R., INGWALL J.S., BURTE C.T., HELMAN S.I., KOUTCHER J.**
NMR Spectroscopy as an investigative technique in physiology
Faseb J., 1987, 1, 22-31

105. **HOCH F.L.**
Metabolic effects of thyroid hormones
In : Handbook of Physiology, American Physiologycal Society, Washington DC, 1974. Section 7 : Endocrinology, volume III, p. 391-411

106. **HOFFMANN J.**
Weitere Beitrag zur Lehre von der Tetanie
Deutsch Z. Nervenheilk, 1897, 9, 278-290

107. **HUDLICKA O., BROWN M.D., COTTER M., SMITH M.E., VRBOVA G.**
The effect of long term stimulation of fast muscles on their blood flow, metabolism and ability to withstand fatigue
Pflügers Arch., 1977, 369, 141-149

108. **IANUZZO C.D., CHEN V., O'BRIEN P., KEENS T.C.**
Effects of experimental dysthyroidism on the enzymatic character of the diaphragm
J. Appl. Physiol. : Respirat. Environ. Exercice Physiol., 1984, 56, 1, 117-121

109. **IANUZZO C.D., PATEL P., CHEN V., O'BRIEN P., WILLIAMS C.**
Thyroidal trophic influence on skeletal muscle myosin
Nature, 1977, 270, 74-76

110. **IDSTROM J.P., SUBRAMANIAN H., CHANCE B., SCHERSTEN T., BYLUND-FELLENIUS A.C. (173)**
Oxygen dependence of energy metabolism in contracting and recovering rat skeletal muscle
Amer. J. Physiol., 1985, 248, H40-H48

111. **INGBAR D.H.**
Thyroid diseases : disorders that cause hypothyroidism : the respiratory system
In : INGBAR S.H., BRAVERMAN L.E. Eds. Werner's : The Thyroid. A fundamental and clinical text, 5th Ed. Philadelphia, Lippincott Company, 1986, pp. 1130-1139

112. **JANSSEN J.W., VAN HARDEVELD C., KASSENAAR A.A.H.**
Evidence for a different response of red and white skeletal muscle of the rat in different thyroid state
Acta Endocrinol., 1978, 87, 768-775

113. **JEHENSON P., DUBOC D., TRAN DINH S., SYROTA A.**
Etude de myopathies metaboliques par spectroscopie RMN du phosphore 31
J. Biophys. Biomec., 1986, 10, 183-185

114. **JEHENSON P., DUBOC D., FARDEAU M., SYROTA A.**
Etude in vivo par spectroscopie RMN du phosphore 31 du métabolisme musculaire en pathologie et sous l'influence de thérapeutique
Thérapie, 1987, 42, 467-470

115. **KACIUBA-USCILKO H., BRZEZINSKA Z., KRUK B., NAZAR K.**
Thyroid hormone deficiency and muscle metabolism during light and heavy exercice in dogs
Pflügers Arch., 1988, 412, 336-337

116. **KARPOVITCH P.V., SINNING W.E.**
Physiologie de l'activité musculaire
7ème édition, 1975, Vigot Frères Ed., Paris, pp. 9-54

117. **KELLER U., OBERHANSLI R., HUBER P., WIDMER L.K., AUE W.P., HUSSINK R.I., MULLER S., SEELING J. (96)**
Phosphocreatine content and intracellular pH of calf muscle measured by phosphorus NMR spectroscopy in occlusive arterial disease of the legs
Eur. J. Clin. Invest., 1985, 15, 382-388

118. **KENT J., CHANCE B., LEIGH J.S., MARIS J., O'TOOLE M., HILLER D.**
Muscle exercice performance evaluation by ^{31}P NMR
Fed. Proc., 1985, 44, 1371

119. **KHALEELI A.A., GOMIL K., Mc PHAIL G., ROUND J.M., EDWARDS R.H.T.**
Muscle morphology and metabolism in hypothyroid myopathy : effects of treatment
J. Clin. Pathol., 1983, 36, 519-526

120. **KIM D.H., WITZMANN F.A., FITTS R.H.**
Effect of thyrotoxicosis on sarcoplasmic reticulum in rat skeletal muscle
Am. J. Physiol., 1982, 243, C151-C155

121. **KINGSLEY-HICKMAN P., SAKO E.Y., ANDREONE P.A., ST CYR J.A., MICHURSKI S., FOKER J.E., FROM A.H.L., PETEIN M., UGURBIL K.**
^{31}P NMR measurement of ATP synthesis rate perfused intact rat heart
Febs Letters, 1986, 198, 158-163

122. **KISSEL P., HARTEMANN P., DUC M.**
Les syndromes myo-thyroïdiens
Paris, Masson, 1965, 167 p.

123. **KLEIN I., PARKER M., SHEBERT R., AYMAR D.R., LEVEY G.S. (56)**
Hypothyroidism presenting as muscle stiffness and pseudo-hypertrophy : Hoffmann's syndrome
Am. J. Med., 1981, 70, 891-894

124. **KLINGENBERG M.**
On the reversibility of oxydative phosphorylation. IV. Relation between the redox state of cytochrome C and the phosphorylation potential of adenosine triphosphate
Biochem. Z., 1961, 335, 263-272

125. **KOCHER T.**
Zur verhütung des Cretinismus und Cretinoïder Zustände nach neuen Forshungen
Deutsch Z. Chir., 1892, 26, 556-626

126. **KRUK B., BRZEZINSKA Z., KACIUBA-USCILKO H., NAZAR K.**
Thyroid hormones and muscle metabolism in dogs
Horm. Metab. Res., 1988, 20, 620-623

127. **KUSHMERICK M.J., MEYER R.A.**
Chemical changes in rat leg muscle by phosphorus nuclear magnetic resonance
Am. J. Physiol., 1985, 248, C542-C549

128. **LARSSON L., EDSTRÖM L.**
Effects of age on enzyme-histochemical fibre spectra and contractile properties of fast and slow-twitch skeletal muscles in the rat
J. Neurol. Sci., 1986, 76, 69-89

129. LAYZER R.B., HAVEL R.J., BECKER N., Mc ILROY M.B.
Muscle carnitine palmitoyl transferase deficiency : a case with diabetes and ketonuria
Neurology, 1977, 27, 379 (abst.)

130. LEE C.P., MARTENS M.E.
Mitochondrial respiration and energy metabolism in muscle
In : ENGEL A.G., BANKER B.Q.
Myology, Basic and Clinical, New-York : Mc Graw-Hill book Company Ed., 1988
pp. 643-671

131. LENEGRE J., HUGUENIN R.
Un cas de grand myxoedème post-radiothérapique avec rigidité musculaire de type myotonique
Bull. Soc. Med., Hop. Paris, 1941, 57, 690-693

132. LOEB J.N.
Thyroid diseases : Disorders that cause hypothyroidism metabolic changes
In : INGBAR S.H., BRAVERMAN L.E. Eds Werner's : The Thyroid. A fundamental and clinical text.
5th Ed., Philadelphia, Lippincott Company, 1986, pp. 1208-1213

133. LUFT R., IKKOS D., PALMIERI G., ERNSTER L., AFZELIUS B.
A case of severe hypermetabolism of non thyroid origin with a defect in the maintenance of mitochondrial respiratory control : a correlated clinical, biochemical and morphological study
J. Clin. Invest., 1962, 41, 1776-1804

134. MACKLER B., HAYNES B., INAMDAR A.R., PEDEGANA L.R., HALL J.G., COHEN M.M.
Oxidative energy deficiency. II. Human achondroplasia
Arch. Biochem. Biophys., 1973, 159, 885-888

135. MARIE P.Y.
Etude en RMN ^{31}P du métabolisme énergétique des muscles squelettiques dans l'insuffisance cardiaque
Thèse NANCY, 1989, 130 p.

136. **MARIE P.Y., ESCANYE J.M., BRUNOTTE F., ROBIN B., WALKER P., ZANNAD F., ROBERT J., GILGENKRANTZ J.M.**
Skeletal muscle metabolism in the leg during exercice in patients with congestive heat failure
Clin. Sci., 1990; 78, 515-519

137. **MASSIE B.M., CONWAY M., RAJAGOPALAN B., YONGE R., FROSTICK S., LEDINGHAM J., SLEIGHT P., RADDA G.K.**
Skeletal muscle metabolism during exercice under ischemic condition in congestive heart failure : evidence for abnormalities unrelated to blood flow
Circulation, 1988, 78, 320-326

138. **MASSIE B.M., CONWAY M., YONGE R., FROSTICK S., LEDINGHAM J., SLEIGHT P., RADDA G.K., RAJAGOPALAN B.**
Skeletal muscle metabolism in patients with congestive heart failure : relation to clinical severity and blood flow
Circulation, 1987, 76, 1009-1019

139. **MASSIE B.M., CONWAY M., YONGE R., FROSTICK S., SLEIGHT P., LEDINGHAM J.,RADDA G.K., RAJAGOPALAN B.**
31P nuclear magnetic resonance evidence of abnormal skeletal muscle metabolism in patients with congestive heart failure
Am. J. Cardiol., 1987, 60, 309-315

140. **MATTHEWS P.M., BLAND J.L., GADIAN D.G., RADDA G.K.**
A 31P NMR saturation transfer study of the regulation of creatine kinase in the heart
Biochim. Biophys. Acta, 1982a, 721, 312-320

141. **Mc DANIEL H.G., PITTMAN C.S., OH S.H., DI MAURO S.**
Carbohydrate metabolism in hypothyroid myopathy
Metabolism, 1977, 26, 8, 867-873

142. **Mc KERAN R.O., SLAVIN G., ANDREWS T.M., WARD P., MAIR W.G.P.**
Muscle fibre type changes in hypothyroid myopathy
J. Clin. Pathol., 1975, 28, 659-663

143. **Mc KERAN R.O., SLAVIN G., WARD P., PAUL E., MAIR W.G.P.**
Hypothyroid myopathy. A clinical and pathological study
J. Pathol., 1980, 132, 35-54

144. **Mc KERAN R.O., WARD P., SLAVIN G., PAUL E.A.**
Central nuclear counts in muscle fibres before and during treatment in hypothyroid myopathy
J. Clin. Pathol., 1979, 32, 229-233

145. **METAIS P., AGNERAY J., FERARD G., FRUCHART J.C., JARDILLER J.C., REVOL A., SIEST G., STAHL A.**
Biochimie Clinique. 3. Biochimie fonctionnelle, Paris, SIMEP SA, 1988, 193-211

146. **MEYER R.A., BROWN T.R., KRILOWICZ B.L., KUSHMERICK M.J.**
Phosphagen and intracellular pH changes during contraction of creatin-depleted rat muscle
Am. J. Physiol., 1986, 250, C264-C274

147. **MEYER R.A., BROWN T.R., KUSHMERICK M.J.**
Phosphorus nuclear magnetic resonance of fast and slow-twitch muscle
Am. J. Physiol., 1985, 248, C279-C287

148. **MEYER R.A., KUSHMERICK M.J., BROWN T.R.**
Application of 31P NMR spectroscopy to the study of striated muscle metabolism
Am. J. Physiol., 1982, 242, C1-C11

149. **MOLLARET P., SIGWALD J.**
Hypertrophie musculaire généralisée et insuffisance thyroïdienne acquise de l'adulte
Gaz. Med. France, 1940, 47, 165-168

150. **MOMMAERTS W.F.H.M., BULLER A.J., SERAYDARIAN K.**
The modification of some biochemical properties of muscle by cross-innervation
Proc. Natl. Acad. Sci., (USA), 1969, 64, 128-133

151. **MOMMAERTS W.F.H.M., SERAYDARIAN K., SUH M., KEAN C.J.C., BULLER A.J.**
The conversion of some biochemical properties of mammalian skeletal muscles following cross-reinnervation
Exp. Neurol., 1977, 55, 637-653

152. **MORGAN-HUGHES J.A., DARVENIKA P., KAHN S.N., LANDON D.N., SHERRAT R.M., LAND J.M., CLARK J.B.**
A mitochondrial myopathy characterized by a deficiency in reductible cytochrome b
Brain, 1977, 100, 617-640

153. **MORRISON W.L., GIBSON J.N.A., JUNG R.T., RENNIE M.J.**
Skeletal muscle and whole body protein turnover in thyroid disease
Eur. J. Clin. Inest., 1988, 18, 62-68

154. **MOTTIER D., BERGERET G., PERREAUT M.F., MISSOUM A., BASTARD J., MABIN D.**
Myopathie thyroïdienne chronique simulant une sclérose latérale amyotrophique
Nouv. Presse Méd., 1981, 10, 20, 1655

155. **MUSSIO-FOURNIER J.C.**
Les troubles du système nerveux dans le myxoedème
Encéphale, 1933, 28, 45-62 et 137-159

156. **NELSON D.R., CORNATZER W.E.**
Effects of thyrohormone on the synthesis of liver, heart and kidney mitochondria phospholipids
Federation Proc., 1963, 22, 359

157. **NEWMAN R.J., BORE P.J., CHAN L., GADIAN D.G., STYLES P., TAYLOR D., RADDA G.K.**
Nuclear magnetic resonance studies of forearm muscle in Duchenne dystrophy
Br. Med. J., 1982, 284, 1072-1074

158. **NICK J.**
Les atrophies myopathiques liées à l'insuffisance thyroïdienne acquise de l'adulte. Etude critique des syndromes myohypothyroïdiens de l'adulte
Thèse Méd. Paris, 1943

159. **NICOL C.J.M., JOHNSTON I.A.**
Energy metabolism of fast and slow twitch skeletal muscle in the rat : thyroid hormone induced changes
J. Comp. Physiol., 1981, 142, 465-472

160. **NORRIS F.H., PANNER B.J.**
Hypothyroid myopathy
Clinical electromyographical and ultrastructural observations
Arch. Neurol., 1966, 14, 574-589

161. **NUNNALLY R.L., HOLLIS D.P.**
Adenosine triphosphate compartmentation in living hearts : a phosphorus nuclear magnetic resonance saturation transfer study
Biochemistry, 1979, 18, 3642-3646

162. **NWOYE L., MOMMAERTS W.F.H.M., SIMPSON D.R., SERAYDARIAN K., MARUSICH M. (270)**
Evidence for a direct action of thyroid hormone in specifying muscle properties
Am. J. Physiol., 1982, 242, R401-R408

163. **ONO S., INOUYE K., MANNEN T.**
Myopathology of hypothyroid myopathy (some new observations)
J. Neurol. Sci., 1987, 77, 237-248

164. **ORD W.M.**
Cases of myxoedema
Trans. Clin. Soc. Med., 1880, 13, 15-19

165. **PAN J.W., HAMM J.R., ROTHMAN D.L., SHULMAN R.G.**
Intracellular pH in human skeletal muscle by 1H NMR
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1988, 85, 7836-7839

166. **PARK J.H., BROWN R.L., PARK C.R., Mc CULLY K., COHN M., HASELGROVE J., CHANCE B.**
Functional pools of oxidative and glycolytic fibres in human muscle observed by 31P magnetic resonance spectroscopy during exercice
Proc. Natl. Acad. Sci (USA), 1987, 84, 8976-8990

167. **PEARCE J., AZIZ H.**
The neuromyopathy of hypothyroidism. Some new observations
J. Neurol. Sci., 1969, 9, 243-253

168. **PETTE D., MULLER W., LEISNER E., VRBOVA G.**
Time dependent effects on contractile properties, fiber population, myosin light chains and enzymes of energy metabolism in intermittently and continuously stimulated fast twitch muscles of the rabbit
Pflügers Arch., 1976, 364, 103-112

169. **PETTE GREW J., MINSHEW N., FEIT H.**
31P NMR studies of normal and dystrophic chicken muscle
Muscle Nerve, 1984, 7, 442-446

170. **POORTMANS J.**
Aspect quantitatif de la dépense énergétique
In : RIEU M.
Bioénergétique de l'exercice musculaire et de l'entraînement physique
Paris : Presses Universitaires de France, 1988, p. 141-145

171. **RADDA G.K., BORE P.J., GADIAN D.G., ROSS B.D., STYLES P., TAYLOR D.J., MORGAN-HUGUES J.A.**
31P NMR examination of two patients with NADH-CoQ reductase deficiency
Nature, 1982, 295, 608-609

172. **RADDA G.K., TAYLOR D.J.**
Applications of nuclear magnetic resonance spectroscopy in pathology
Int. Rev. Exp. Pathol., 1985, 27, 1-58

173. RAMSAY I.A.
Thyroid Disease and Muscle Dysfunction
London, 1974. W. Heineman Medical Books (1974)

174. RENY A., LECLERE J., RASPILLER A., HARTEMANN P.
Les déficits moteurs oculo-palpébraux au cours des dysthyroïdies
Ann. Endocr., 1971, 32, 64-82

175. REZA M.J., KAR N.G., PEARSON C.M., KARK R.A.P.
Recurrent myoglobinuria due to muscle carnitine palmityl transferase deficiency
Ann. Inter. Med., 1978, 88, 610-615

176. RIEU M., CERRETELLI P., GUEZENNEC C.Y., HAINAUT K., HOWALD H., PESQUIES P., POORTMANS J., DI PRAMPERO P., WASSERMANN D.
Bioénergétique de l'exercice musculaire et de l'entraînement physique
Paris, Presses Universitaires de France, 1988, 463 p.

177. RIMBAUD L., PASSOUANT P.
Les dystrophies musculaires des hypothyroïdiens
Rev. Neurol., 1947, 79, 81-96

178. ROBERTS E., LOWE I.P.
Occurence of the O-phosphodiester of L-serine and ethanolamine in turtle tissue
J. Biol. Chem., 1954, 211, 1-12

179. ROBINSON B.H., SHERWOOD W.G.
Pyruvate dehydrogenase phosphatase deficiency : a cause of congenital chronic lactic acidosis in infancy
Pediat. Res., 1975, 9, 935-939

180. **ROSENQUIST U.**
Noradrenaline-induced lipolysis in subcutaneous adipose tissue from hypothyroid subjects
The relation of noradrenaline response to the degree and duration of the disease
Acta. Med. Scand., 1972, 192, 361-369

181. **ROSS B.D., RADDA G.K.**
Application of 31P NMR to inborn errors of muscle metabolism
Biochem. Soc. Trans., 1983, 11, 627-630

182. **ROSS B.D., RADDA G.K., GADIAN D.G., ROCKER G., ESIRI M., FALCONER-SMITH J.**
Examination of a case of suspected Mc Ardle's syndrome by 31P nuclear magnetic resonance
N. Engl. J. Med., 1981, 304, 1338-1342

183. **ROSSI A.**
L'énergétique musculaire étudiée par la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire du phosphore (muscles squelettique et cardiaque)
Association des physiologistes, Grenoble, 21-23 septembre 1988, A393-A409

184. **RUFF R.L.**
Endocrine myopathies (hyper and hypofunction of adrenal, thyroid, pituitary and parathyroid glands and iatrogenic steroid myopathy)
In : Myology. Engel A.G., and Banker B.Q. editors, Mc Graw-Hill Book Co, New-York, 1986, 1871-1906

185. **RUSCA-BECU M.**
La spectroscopie par résonance magnétique nucléaire du phosphore 31 appliquée à l'analyse du muscle strié squelettique au cours de l'insuffisance respiratoire chronique : étude de 10 sujets malades et de 10 sujets témoins
Th. Méd. Nancy I, 1989, n° 245, 149 p.

186. **SAHAY B.M., BLENDIS L.M., GREENE R.**
Relation between myasthenia gravis and thyroid disease
Brit. Med. J., 1965, 1, 762-765

187. **SALVIATI G., ZEVIANI M., BETTO R., NACAMULLI D., BUSNARDO B.**
Effects of thyroid hormones on the biochemical specialization of human muscle fibers.
Muscle Nerve, 1985, 8, 363-371

188. **SAPEGA A.A., SOKOLOW D.P., GRAHAM T.J., CHANCE B. (72)**
Phosphorus nuclear magnetic resonance : a non invaside technique for the study of muscle bio-energetics during exercice
Med. Sci. Sports Exerc., 1987, 19, 410-420.

189. **SCHWARTZ D.**
Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes
3ème ed., Paris : Flammarion Médecine-Sciences, 1986; 318 P.

190. **SERRATRICE G., GASTAUT J.L.**
Biopsie Musculaire in :
Maladies Musculaires, Paris : Masson Ed., 1982, 252 p.

191. **SHABAS D., GERARD G.**
Magnetic resonance in neuromuscular disorders
Seminars in Neurology, 1986, 6, 94-99

192. **SHAMBAUGH G.E.**
Thyroid hormone action
Biologic and cellular effects
In : INGBAR S.H., BRAVERMAN L.E. Eds
Werner's : The Thyroid. A fundamental and clinical text, 5th Ed. Philadelphia : Lippincott company, 1986, pp. 201-218

193. **SHERGY W.J., CALDWELL D.S.**
Polymyositis after propylthiouracile treatment for hyperthyroidism
Ann. Rheum. Dis., 1988, 47, 340-343

194. **SHY G.M., ENGEL W.K., SOMERS J.E., WANKO T.**
Nemaline myopathy. A new congenital myopathy
Brain, 1963, 86, 793-810

195. **SHY G.M., GONATAS N.K.**
Human myopathy with giant abnormal mitochondria
Science, 1964, 145, 493-496

196. **SHY G.M., GONATAS N.K., PEREZ M.**
Two childhood myopathies with abnormal mitochondria : I. Megaconial myopathy. II. Pleioconial myopathy
Brain, 1966, 89, 133-158

197. **SIMONIDES W.S., VAN HARDEVELD C.**
(Ca 2+ + Mg 2+) - ATPase activity associated with the maintenance of a Ca 2+ gradient by sarcoplasmic reticulum at submicromolar external Ca 2+. The effect of hypothyroidism.
Biochim. Biophys. Acta, 1988, 943, 349-59

198. **SIMPSON J.A.**
Immunological disturbance in myasthenia gravis with a report of Hashimoto's disease developping after thyroidectomy
J. Neurol. Neurosurg. Psychiat., 1964, 27, 485-492

199. **SKELTON C.L., SONNENBLICK E.H.**
Thyroid diseases : disorders that cause hypothyroidism , the cardiovascular system
In INGBAR S.H., BRAVERMAN L.E. Eds Werner's : the thyroid. A fundamental and clinical text. Philadelphia, Lippincott Company fifth edition, 1986, 1140-1148

200. **SOKOLOFF L., KAUFMAN S., CAMPBELL P.L., FRANCIS C.M., GELBOIN H.V.**
Thyroxine stimulation of amino-acid incorporation into protein. Localization of stimulated step
J. Biol. Chem., 1963, 238, 1432-1437

201. **SPIRO A.J., MOORE C.L., PRINEAS J.W., STRASBERG P.M., RAPIN I.**
A cytochrome-related inherited disorder of the nervous system and muscle
Arch. Neurol., 1970a, 23, 103-112

202. STERLING K., LAZARUS J.H., MILCH P.O., SAKURADA T., BRENNER M.A.
Mitochondrial thyroid hormone receptor : localization and physiological significance
Science, 1978, 201, 1126-1129

203. STERN L.Z., FAGAN J.M.
The endocrine myopathies.
In : Handbook of clinical neurology. Part II : Diseases of Muscle
VINKEN P.J., BRUYN G.W., , Eds, North - Holland Publishing Company Amsterdam, 1979, 235-258

204. TAYLOR D.J., BORE P.J., STYLES P., GADIAN D.G., RADDA G.K.
Bioenergetics of intact human muscle : a 31P nuclear magnetic resonance study
Mol. Biol. Med., 1983, 1, 77-94

205. TAYLOR D.J., RAJAGOPALAN B., RADDA G.K.
31 Phosphorus magnetic resonance spectroscopy reveals a unique pattern of cellular energetics in hypothyroid muscle
8th annual meeting of the society of magnetic resonance in medicine
Amsterdam, The Netherlands, August 12-18, 1989

206. TAYLOR D.J., STYLES P., MATTHEWS P., ARNOLD D.A., GADIAN D.G., BORE P., RADDA G.K.
Energetics of human muscle : exercise-induced ATP depletion
Magn. Reson. Med., 1986, 3, 44-54

207. TERJUNG R.L., KOERNER J.E.
Biochemical adaptations in skeletal muscle of trained thyroidectomized rat
Am. J. Physiol., 1976, 230, 1194-1197

208. TOURNIAIRE J., DAVID M.
Hypothyroïdies
EMC, 1974, 100 006 A10

209. **VADROT D., ARRIVE L., GUINET C.**
Imagerie par résonance magnétique. Notions théoriques. Applications pratiques abdomino-pelviennes
Maloine Ed. Paris, 1986, 207 p.

210. **VAN BIERVLIET J.P.A.M., BRUINVIS L., KETTING D., DE BREE P.K., VAN DER HEIDEN C., WADMAN S., WILLEMS J.L., BOOKELMAN H., VAN HAELST U.V., MOMMENS L.A.H.**
Hereditary mitochondrial myopathy with lactic acidemia, a De Toni-Franconi-Debré syndrome, and a defective respiratory chain in voluntary striated muscles
Pediat. Res., 1977, 11, 1088-1098

211. **VAN HARDEVELD C., KASSENAAR A.A.**
Effects of experimental hypothyroidism on skeletal muscle metabolism in the rat
Acta Endocrinol., 1978, 87, 114-124

212. **WERNER S.C.**
Werner's. The thyroid
A fundamental and clinical text. Fifth edition
Philadelphia, J.B. Lippincott Company, 1986, 1526 p.

213. **WIENER D.H., FINK D.J., MARIS J., JONES R.A., CHANCE B., WILSON J.R.**
Abnormal skeletal muscle bioenergetic during exercice in patients with heart failure : role of reduced muscle blood flow
Circulation, 1986, 73, 1127-1136

214. **WILES C.M., YOUNG A., JONES D.A., EDWARDS R.H.T.**
Muscle relaxation rate, fibre-type composition and energy turnover in hyper- and hypothyroid patients
Clin. Sci., 1979, 57, 375-384

215. **WILKIE D.R., DAWSON M.J., EDWARDS R.H.T., GORDON R.E., SHAW D.**
31P NMR studies of resting muscle in normal human subjects
Adv. Exp. Med. Biol., 1984, 170, 333-346

216. **WILKINSON J.H., ROBINSON J.M.**
Effect of ATP on release of intracellular enzymes from damaged cells
Nature, 1974, 249, 662-663

217. **WILLEMS J.L., MOMMENS L.A.M., TRIJBELS J.M.F., WEERKAMP J.H., MEYER A.E.F.H., VAN DAM K., VAN HAELST U.**
Leigh's encephalo-myelopathy in a patient with cytochrome C oxidase deficiency in muscle tissue
Pediatrics, 1977, 60, 850-857

218. **WILSON J., WALTON J.N.**
Some muscular manifestations of hypothyroidism
J. Neurol. Neurosurg. Psychiat., 1959, 22, 230-234

219. **WILSON J.R., FINK L., MARIS J., FERRARO N., POWER-VAN WART J., ELEFF J., CHANCE B.**
Evaluation of energy metabolism in skeletal muscle of patients with heart failure with gated phosphorus 31 nuclear magnetic resonance
Circulation, 1985, 71, 57-62

220. **WILSON W.R., BEDELL G.N.**
The pulmonary abnormalities in myxoedema
J. Clin. Invest., 1960, 39, 42-55

221. **WOJTCZAK L., LEHNINGER A.L.**
Formation and disappearance of endogenous uncoupling factor during swelling and contraction of mitochondria
Biochim. Biophys. Acta, 1961, 51, 442-446

222. **WOLFF E.C., WOLFF J.**
The mecanism of action of the thyroid hormones
in : The Thyroid Gland 1. Butterworth and Co Ltd, 1964, 237-282

223. **WRAY S., TOFTS P.S.**
Direct in vivo measurement of absolute metabolite concentrations using 31P nuclear magnetic resonance spectroscopy
Bioch. Biophys. Acta, 1986, 886, 399-405

UNIVERSITE de NANCY
BIBLIOTHEQUE
Section de Médecine

224. **ZATINA M.A., BERKOWITZ H.D., CHANCE B., MARIS J.M., GROSS G.M.**
31P nuclear magnetic resonance spectroscopy : non-invasive biochemical analysis of ischemic extremity
J. Vasc. Surg., 1986, 3, 411-420

225. **ZURCHER R.M., HORBER F.F., GRUNIG B.E., FREY F.J.**
Effect of thyroid dysfunction on thigh muscle efficiency
J. Clin. Endocrinol. Metab., 1989, 69, 1082-1086

226. **ZWEIR J.L., JACOBUS W.E.**
Substrate-induced alterations of high energy phosphate metabolism and contactile function in the perfused heart
J. Biol. Chem, 1987, 262, 8015-8021

V U

NANCY , le 15 juin 1990
Le Président de Thèse

Professeur M. DUC

NANCY , le 05 Septembre 1990
Le Doyen de la Faculté de Médecine

Professeur F. STREIFF

AUTORISE A SOUTENIR ET A IMPRIMER LA THESE

NANCY , le 10 Septembre 1990

LE PRESIDENT DE L' UNIVERSITE DE NANCY 1

Professeur M. BOULANGE

Thèse réalisée par REPRO CENTER

C.C. BRABOIS

54500 VANDOEUVRE

Tél: 83.44.05.69

NOM et PRENOM : [illegible]

SUJET DE LA THESE : **ETUDE EN SPECTROSCOPIE RMN ^{31}P DE LA MYOPATHIE HYPOTHYROIDIENNE**

THESE : MEDECINE - NANCY I - ANNEE : 1990

NUMERO D'IDENTIFICATION : 90 NAN 1. 211

MOTS CLEFS :
- SPECTROSCOPIE ^{31}P-RMN
- MUSCLE - HYPOTHYROIDIE
- ETUDE EXPERIMENTALE
- MYOPATHIES MITOCHONDRIALES

Dans une étude spectroscopique ^{31}P-RMN, nous avons étudié, in vivo, le muscle s squelettique de 4 groupes de rats : 3 groupes de 12 rats rendus hypothyroïdiens par l'administrat de propylthiouracile pendant respectivement 2, 4 et 6 semaines et 1 groupe de rats témo indemnes de toute endocrinopathie.

Au repos, les rats hypothyroïdiens présentaient une acidose musculaire plus prononcée l'effort, nous constatons chez les rats intoxiqués, une consommation sensiblement supérieure phosphocréatine et vraisemblablement d'ATP, ainsi que la production de phosphodiesters signification encore hypothétique. Lors de la récupération, la régénération de la phosphocréatine e considérablement ralentie par rapport au groupe témoin.

L'ensemble de ces constatations fait évoquer une altération des phosphorylations oxydativ ce qui nous incite à considérer la myopathie hypothyroïdienne comme une myopathie mitochondri acquise, d'installation précoce, puisque nous observons les principaux stigmates spectroscopiq dès 2 semaines d'intoxication par l'antithyroïdien de synthèse.

JURY : Président : Mr le Professeur M. DUC

Juges : Mr le Professeur P. HARTEMANN
Mr le Professeur J. LECLERE
Mr le Professeur J. ROBERT
Mr le Docteur P. KAMINSKY

ADRESSE : 4, Place de Karlsruhe - 54000 - NANCY