



Thèse

2012

Open Access

This version of the publication is provided by the author(s) and made available in accordance with the copyright holder(s).

Stimulation magnétique répétitive des nerfs phréniques pour la prévention
de la dysfonction diaphragmatique induite par la ventilation mécanique:
une étude pilote de faisabilité

Adler, Dan Elie

How to cite

ADLER, Dan Elie. Stimulation magnétique répétitive des nerfs phréniques pour la prévention de la dysfonction diaphragmatique induite par la ventilation mécanique: une étude pilote de faisabilité. Doctoral Thesis, 2012. doi: 10.13097/archive-ouverte/unige:18486

This publication URL: <https://archive-ouverte.unige.ch/unige:18486>

Publication DOI: [10.13097/archive-ouverte/unige:18486](https://doi.org/10.13097/archive-ouverte/unige:18486)

Section de médecine Clinique

Département de Médecine Interne

Service de Pneumologie

Thèse préparée sous la direction du **Professeur Thierry Rochat**

**Stimulation magnétique répétitive des nerfs
phréniques pour la prévention de la dysfonction
diaphragmatique induite par la ventilation mécanique: une
étude pilote de faisabilité**

Thèse

Présentée à la Faculté de Médecine
de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine
par

Dan Elie ADLER

de

Genève

Thèse n° 10662

Genève

2012

Repetitive magnetic stimulation of the phrenic nerves for diaphragm conditioning: a normative study of feasibility and optimal settings.

Adler D, Gottfried SB, Bautin N, Mirkovic T, Schmidt M, Raux M, Pavlovic D, Similowski T, Demoule A



**UNIVERSITÉ
DE GENÈVE**

FACULTÉ DE MÉDECINE

DOCTORAT EN MEDECINE

Thèse de :

Dan Elie ADLER

originaire de Genève (GE)

Intitulée :

Stimulation magnétique répétitive des nerfs phréniques pour la prévention de la dysfonction diaphragmatique induite par la ventilation mécanique : une étude pilote de faisabilité

La Faculté de médecine, sur le préavis de Monsieur Thierry Rochat, professeur ordinaire au Département de médecine interne, autorise l'impression de la présente thèse, sans prétendre par là émettre d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

Genève, le 25 janvier 2012

Thèse n° **10662**

Henri Bounameaux
Doyen

N.B. - La thèse doit porter la déclaration précédente et remplir les conditions énumérées dans les "Informations relatives à la présentation des thèses de doctorat à l'Université de Genève".

UNIVERSITE DE GENEVE

Faculté de Médecine

Doctorat en Médecine

Thèse de :

Monsieur Dan Elie ADLER

Originaire de GENEVE

Intitulée:

**Repetitive Magnetic Stimulation of the phrenic nerves for
diaphragm conditioning: a normative study of feasibility
and optimal settings.**

Je remercie,

le Professeur Thierry Rochat pour son soutien et ses encouragements. Il a su me faire sentir que le Service de Pneumologie appartient à ceux qui y travaillent et souhaitent s'y développer ;

le Professeur Thomas Similowski. Il m'a permis d'intégrer pendant deux ans une équipe de cliniciens et de chercheurs dynamiques et motivés. En me confiant la responsabilité de plusieurs travaux, il a veillé à mon développement personnel et scientifique. Ses conseils et son encadrement ont été particulièrement précieux pour le bon déroulement de cette étude ;

le Docteur Alexandre Demoule qui m'a supervisé directement sur ce projet avec sa rigueur, sa patience et ses grandes capacités d'enseignant. Sa disponibilité dans un emploi du temps chargé n'a jamais été prise en défaut. Il a su me transmettre sa curiosité en physiologie respiratoire ;

Mattieu, Nathalie, Lysandre pour les bons moments passés au Laboratoire de « Physiopathologie Respiratoire », EA 2397, Université Paris VI

Je dédie cette thèse à Ghazal, Navid et Elie.

Table des matières

Résumé	4
PREMIERE PARTIE (Introduction)	6
La dysfonction diaphragmatique induite par la ventilation mécanique	6
Les modèles animaux.....	7
Mécanismes sous-jacents	8
Les études humaines	10
Stratégies de prévention de la VIDD	12
Position du problème et objectif de la thèse	13
Bibliographie.....	15
DEUXIEME PARTIE (Manuscrit accepté dans Applied Physiology, Nutrition and Metabolism)	18
Abstract	20
Introduction.....	21
Materials and Methods	22
Results.....	25
Discussion	27
Acknowledgements	31
References	32
Figures.....	37
Figure Legends.....	41

Résumé

La dysfonction diaphragmatique induite par la ventilation mécanique (VIDD), entité récemment décrite, s'ajoute aux effets secondaires déjà connus de la ventilation mécanique. La VIDD pourrait contribuer à des difficultés de sevrage ventilatoire et deviendrait alors une cible pertinente de mesures de prévention. La stimulation répétitive d'un muscle restaure sa masse et sa fonction. Par son caractère non-invasif, la stimulation magnétique cervicale répétitive des nerfs phréniques (rCMS) pourrait trouver une indication en réanimation comme outil de prévention de la VIDD. L'objectif de cette étude est d'évaluer la tolérance de la rCMS chez le sujet sain et de déterminer les paramètres idéaux de stimulation.

7 volontaires sains (4 hommes, âge 31-58 ans) ont participé à des sessions de rCMS appliquée sous forme de trains de stimulation de 800ms (Magstim Rapid-Rate dual PSU, Whitland Dyfed, Wales, UK). La fréquence de stimulation a été modulée de 1 à 30 Hz et l'intensité de la stimulation de 50 à 100% de l'intensité maximale du stimulateur magnétique. L'EMG diaphragmatique (Edi) a été recueilli au moyen d'électrodes de surface. Les pressions œsophagiennes (Poeso) et gastriques (Pgastr) ont été mesurées au moyen de deux sondes à ballonets introduites par le nez. La pression transdiaphragmatique (Pdi) a été calculée comme la différence Pgastr-Poeso. L'inconfort engendré par la rCMS a été évalué au moyen d'une échelle visuelle analogique (EVA) graduée de 0 à 10.

La rCMS entraîne une contraction involontaire soutenue du diaphragme. La Pdi augmente en fonction de la fréquence et de l'intensité de la stimulation au prix d'une augmentation de l'inconfort lié à la stimulation. Une rCMS à 15 Hz avec une intensité de 65% de l'intensité maximale de stimulation représente le meilleur compromis entre la Pdi et l'inconfort lié à la stimulation et n'induit pas de fatigue du diaphragme.

La rCMS à une fréquence et une intensité limitées entraîne une contraction diaphragmatique soutenue et indépendante de la volonté du sujet au prix d'un inconfort modéré. Ces données préliminaires autorisent la poursuite des recherches visant au développement de cette technique pour la prévention de la VIDD chez certains patients de réanimation traités par ventilation mécanique contrôlée.

PREMIERE PARTIE (Introduction)

La dysfonction diaphragmatique induite par la ventilation mécanique

La ventilation mécanique (VM), pierre angulaire du traitement de l'insuffisance respiratoire aiguë, est l'un des traitements les plus souvent administrés en réanimation (Wunsch, Linde-Zwirble et al. 2010). La VM est dite « contrôlée » quand les patients sont dépourvus de toute activité musculaire diaphragmatique ; la totalité du travail respiratoire est alors assurée par le ventilateur. Par opposition, la ventilation est dite « assistée » quand le patient déclenche son ventilateur et participe dans une proportion variable à la genèse de sa propre ventilation.

Bien que la VM diminue indiscutablement la mortalité par insuffisance respiratoire aiguë, elle est grevée de certaines complications bien étudiées dont les pneumonies nosocomiales (2005), l'instabilité hémodynamique (Michard, Chemla et al. 1999) et les baro/volo traumatismes (Dreyfuss and Saumon 1998).

Il a été récemment suggéré que la VM peut aussi avoir paradoxalement un effet délétère sur la fonction et la structure du diaphragme (Vassilakopoulos and Petrof 2004). Aux complications déjà décrites de la ventilation mécanique s'ajoute donc une nouvelle entité : la dysfonction diaphragmatique induite par la ventilation mécanique (*ventilator-induced diaphragmatic dysfunction* - VIDD). En effet, on sait que la VM contrôlée est susceptible de provoquer, rapidement après son instauration, une dysfonction diaphragmatique liée à la non-utilisation de ce muscle. La réalité de la VIDD est maintenant démontrée tant chez l'animal (Vassilakopoulos and Petrof 2004) que chez l'humain (Levine, Nguyen et al. 2008; Jaber, Petrof et al. 2011)

L'objectif de cette brève introduction est de revoir les données scientifiques démontrant l'existence et les mécanismes sous-jacents de la VIDD chez l'animal. Nous discuterons aussi des études humaines récentes qui pour l'essentiel confirment les données animales. Enfin, nous évoquerons quelques axes de recherche pour la prévention de la VIDD dont la stimulation magnétique répétitive des nerfs phréniques.

Les modèles animaux

Etudes Animales In Vivo

Les études animales démontrent que la ventilation contrôlée, au cours de laquelle le diaphragme n'a pas d'activité spontanée, se complique d'une altération des propriétés contractiles de ce dernier. Cette altération survient précocement et se poursuit tout au long de la période de ventilation mécanique (Anzueto, Peters et al. 1997; Radell, Remahl et al. 2002; Sassoone, Caiozzo et al. 2002; Capdevila, Lopez et al. 2003). Ainsi, une ventilation mécanique de courte durée, entre 1 et 11 jours selon l'espèce étudiée, diminue de 40 à 50% la pression que produit le diaphragme en réponse à une stimulation phrénique. Ensemble, ces études démontrent que l'altération de la fonction du diaphragme n'est pas secondaire à des variations du volume pulmonaire qui peuvent modifier la géométrie du diaphragme donc son efficacité (Anzueto, Peters et al. 1997), ni à une conduction phrénique défailante ou à une atteinte de la jonction neuromusculaire (Radell, Remahl et al. 2002). En revanche, le potentiel d'action composite du diaphragme est diminué, ce qui pourrait suggérer une anomalie du couplage excitation-contraction des fibres musculaires (Radell, Remahl et al. 2002).

Plusieurs travaux réalisés *ex vivo* sur des bandelettes diaphragmatiques isolées confirment les données obtenues *in vivo*. Après trois jours de VM, il existe une diminution de la force maximale d'environ 30 à 50% en condition isométrique (Le Bourdelles, Viires et al. 1994; Powers, Shanely et al. 2002; Sassoone, Caiozzo et al. 2002). L'altération de contractilité est à la fois précoce et progressive en fonction de la durée de la VM (Powers, Shanely et al. 2002). L'avantage des études *ex vivo* est l'élimination de tous les facteurs extrinsèques au diaphragme pouvant participer à une diminution de sa fonction (propriétés mécaniques du thorax, de l'abdomen et l'élongation des fibres musculaires). Il existe donc chez l'animal de nombreux arguments en faveur d'une dysfonction diaphragmatique induite par la ventilation mécanique, laquelle semble résulter d'anomalies intrinsèques au diaphragme.

Mécanismes sous-jacents

Les mécanismes sous-jacents à la VIDD sont multiples et impliquent : une diminution de la masse avec atrophie musculaire, un stress oxydatif, des lésions structurelles et un remodelage des fibres musculaires.

Une *diminution de la masse musculaire ou une atrophie des fibres musculaires* ont été observées dans la plupart des études qui se sont intéressées à cette mesure (Le Bourdelles, Viires et al. 1994; Anzueto, Peters et al. 1997; Yang, Luo et al. 2002; Bernard, Matecki et al. 2003). La principale hypothèse susceptible de rendre compte de cette atrophie est l'interruption de l'activité contractile du diaphragme secondaire à l'instauration d'une VM contrôlée. Deux mécanismes peuvent alors contribuer à

l'atrophie : une diminution de la synthèse des protéines(Shanely, Zergeroglu et al. 2002; McClung, Van Gammeren et al. 2009) et une augmentation de la protéolyse(Shanely, Zergeroglu et al. 2002; DeRuisseau, Kavazis et al. 2005; Maes, Testelmans et al. 2007; McClung, Kavazis et al. 2007). A noter que la diminution de la masse musculaire avec atrophie ne peut à elle seule rendre compte de l'altération des propriétés contractiles du diaphragme. En effet, dans les études *ex-vivo*, la force de la bandelette étudiée est diminuée alors même qu'elle est normalisée pour sa masse et sa surface.

Le *stress oxydatif* est probablement l'un des mécanismes les plus précoces de la dysfonction diaphragmatique induite par la VM. Il peut être mesuré par l'augmentation de concentration des produits dérivés de l'oxydation des protéines dans le diaphragme et par l'augmentation de la peroxydation lipidique (Shanely, Zergeroglu et al. 2002). Dès la 6^{ème} heure de VM, les lésions oxydatives apparaissent chez le rat (Zergeroglu, McKenzie et al. 2003). Il en est de même à la 72^{ème} heure de ventilation chez le porcelet (Jaber, Sebbane et al. 2005). A noter que les lésions oxydatives intéresseraient préférentiellement des protéines impliquées dans le couplage excitation-contraction, dans la régulation intracellulaire du calcium ainsi que les protéines de l'appareil cellulaire contractile(Reid 2001; Zergeroglu, McKenzie et al. 2003). On ne sait toujours pas précisément comment l'inactivité complète du diaphragme pourrait déclencher un stress oxydatif. Seraient impliqués une augmentation du taux de l'enzyme superoxide xanthine oxidase ou encore une augmentation intracellulaire des éléments suivants : fer, calcium, cuivre, manganèse. On postule toutefois que cette inflammation est liée uniquement à la non-utilisation du diaphragme et qu'elle est totalement indépendante d'une inflammation systémique telle qu'on pourrait l'observer par exemple au cours d'un choc septique qui nécessiterait l'instauration d'une ventilation mécanique.

Des lésions structurelles des différentes organelles de la cellule musculaire du diaphragme sont aussi impliquées dans le développement de la VIDD. De fait, des anomalies structurelles microscopiques sont retrouvées après 2 ou 3 jours de ventilation mécanique chez le lapin : rupture des myofibrilles, augmentation du nombre de vacuoles lipidiques dans le sarcoplasme et petites mitochondries anormales (Sassoon, Caiozzo et al. 2002; Bernard, Matecki et al. 2003; Zhu, Sassoon et al. 2005).

Enfin, la ventilation mécanique contrôlée s'accompagne *d'un remodelage des fibres musculaires diaphragmatiques*. Chez le rat, après 18 heures de ventilation mécanique contrôlée, on note une atrophie des fibres de type I (lentes) et de type II (rapides), laquelle est toutefois plus marquée pour les fibres de type II (Shanely, Zergeroglu et al. 2002). L'expression de l'ARN messager correspondant aux différentes isoformes de la myosine est diminuée après 24 heures de ventilation mécanique (Racz, Gayan-Ramirez et al. 2003). Des données superposables sont retrouvées chez le lapin (Bernard, Matecki et al. 2003). Parce que la force produite par les fibres de type I est moindre que celle produite par les fibres de type II (Geiger, Cody et al. 2000), une modification du phénotype en faveur des fibres de type I (lentes) pourrait participer à l'altération des propriétés contractiles du diaphragme après 24 ou 48 heures de VM contrôlée.

Les études humaines

Les données humaines sont moins nombreuses mais confirment les données animales.

Levine et al. ont comparé 14 biopsies de diaphragme chez des patients en mort cérébrale après 18 à 69 heures de VM contrôlée à 8 biopsies de diaphragme de

contrôle obtenues au cours d'une chirurgie thoracique élective (Levine, Nguyen et al. 2008). L'examen histologique révèle l'existence d'une atrophie diaphragmatique précoce survenant déjà après 18 heures de VM. En comparaison au groupe contrôle, on met en évidence une diminution du diamètre des fibres musculaire du diaphragme supérieure à 50% chez les patients en mort cérébrale sous VM. Cette atrophie musculaire n'implique pas le muscle grand pectoral ce qui indique qu'elle est spécifique et consécutive à l'instauration de la VM. Dans le même papier, des études biochimiques et d'expression génique suggèrent que l'atrophie musculaire est secondaire à une dégradation des protéines induite par un stress oxydatif. En effet, on mesure une diminution de 23% de la concentration de glutathione dans les diaphragmes des patients en mort cérébrale sous VM par rapport au groupe contrôle. L'augmentation de la protéolyse est quant à elle démontrée par une augmentation de 154% de l'expression de caspase-3. Enfin, comme la protéolyse musculaire implique le système « ubiquitine-protéasome », Levine et al. démontrent aussi une augmentation du RNA messenger pour deux ubiquitine-ligases spécifiques (atrogin-1 et MuRF-1) de 200%, respectivement 590% dans le groupe mort cérébrale. En effet, toute protéine doit être activement marquée d'une ubiquitine pour être prise en charge par le protéasome pour sa dégradation. Sur ces bases, les auteurs concluent que 18 à 69 heures de non-utilisation du diaphragme au cours d'une VM contrôlée entraînent une atrophie diaphragmatique dont le mécanisme principal est une augmentation du stress oxydatif.

Plus récemment, il a aussi été montré chez l'homme que la VM augmente directement le catabolisme cellulaire par l'induction de phénomènes d'autophagie qui s'additionnent aux autres voies de protéolyse décrites plus haut (Hussain, Mofarrahi et al. 2010). L'autophagie est caractérisée par la formation de vésicules (autophagosomes) capables d'englober les organelles cytoplasmiques et certaines

protéines avant de fusionner avec un lysosome pour en dégrader le contenu. A nouveau, il semble que les phénomènes d'autophagie soient spécifiques au diaphragme et n'impliquent la musculature locomotrice que de manière marginale.

Enfin, aux modifications biochimiques et structurelles induites par la VM correspond aussi une atteinte fonctionnelle du diaphragme humain. La pression générée contre des voies aériennes occluses après une stimulation magnétique cervicale des nerfs phréniques diminue progressivement après l'initiation d'une VM contrôlée en réanimation avec une réduction moyenne de 32% après 6 jours de ventilation, cette diminution étant étroitement corrélée à la durée de la ventilation (Jaber, Petrof et al. 2011).

Tant chez l'animal que chez l'homme, nous avons aujourd'hui suffisamment d'arguments pour démontrer la réalité de la VIDD que ce soit d'un point de vue biochimique, structurel ou fonctionnel.

Stratégies de prévention de la VIDD

De manière unanime, les études animales ont montré que préserver une activité inspiratoire spontanée contribue à prévenir la VIDD (Sassoon, Zhu et al. 2004; Gayan-Ramirez, Testelmans et al. 2005; Futier, Constantin et al. 2008; Jung, Constantin et al. 2010). Dans la pratique quotidienne, les cliniciens appliquent déjà ce principe quand ils le peuvent : recours à la ventilation spontanée en aide inspiratoire chez les patients intubés et utilisation croissante de ventilation non invasive. Néanmoins, ces modes de ventilation mécanique ne peuvent être utilisés dans certaines situations, soit en raison de l'inconfort du patient soit parce qu'une sédation trop lourde s'avère nécessaire. C'est précisément dans ces situations

qu'une stimulation magnétique intermittente des nerfs phréniques, de par sa nature non traumatique et indolore (Similowski, Fleury et al. 1989), pourrait trouver une application prometteuse (Pavlovic and Wendt 2003). En effet, la stimulation répétitive d'un muscle restaure sa masse et sa fonction, elle peut être utilisée quand l'état clinique d'un patient ne permet pas une réhabilitation active (Vivodtzev, Pepin et al. 2006; Roig and Reid 2009). Elle est applicable en situation aiguë en réanimation (Gerovasili, Stefanidis et al. 2009) ainsi que chez des patients atteints de polyneuromyopathie des soins intensifs (Routsi, Gerovasili et al. 2010). A ce jour, la stimulation répétitive n'a été étudiée principalement qu'au niveau des muscles locomoteurs. Une seule étude chez le sujet sain montre que la stimulation magnétique répétitive des nerfs phréniques permet une contraction suffisante du diaphragme pour produire un volume courant sans toutefois fournir des informations détaillées sur les propriétés contractiles du diaphragme dans ces conditions (Sander, Dieck et al. 2010).

Position du problème et objectif de notre travail

La VIDD pourrait contribuer aux difficultés de sevrage de la ventilation mécanique. Le maintien d'une activité musculaire spontanée du diaphragme prévient en partie la VIDD. Néanmoins, ceci n'est pas toujours possible chez des patients en réanimation. Eu à sa nature non traumatique et indolore, la stimulation magnétique cervicale répétitive des nerfs phrénique (rCMS) pourrait trouver ici une application thérapeutique. L'objectif de notre travail a été d'évaluer la faisabilité et la tolérance de cette thérapeutique chez le sujet sain en ventilation spontanée et en ventilation mécanique non invasive et de déterminer les paramètres idéaux de stimulation. Il

s'agit d'une étape préliminaire indispensable à la réalisation de futures études visant la prévention de VIDD chez des patients ventilés en réanimation.

Ce travail original est présenté dans la deuxième partie de la thèse sous la forme du manuscrit en anglais, tel qu'il a été accepté pour publication.

Bibliographie

1. Wunsch H, Linde-Zwirble WT, Angus DC, Hartman ME, Milbrandt EB, Kahn JM. The epidemiology of mechanical ventilation use in the United States. *Crit Care Med* 2010;38(10):1947-53.
2. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171(4):388-416.
3. Michard F, Chemla D, Richard C, Wysocki M, Pinsky MR, Lecarpentier Y, et al. Clinical use of respiratory changes in arterial pulse pressure to monitor the hemodynamic effects of PEEP. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159(3):935-9.
4. Dreyfuss D, Saumon G. Ventilator-induced lung injury: lessons from experimental studies. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157(1):294-323.
5. Vassilakopoulos T, Petrof BJ. Ventilator-induced diaphragmatic dysfunction. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;169(3):336-41.
6. Levine S, Nguyen T, Taylor N, Friscia ME, Budak MT, Rothenberg P, et al. Rapid disuse atrophy of diaphragm fibers in mechanically ventilated humans. *N Engl J Med* 2008;358(13):1327-35.
7. Jaber S, Petrof BJ, Jung B, Chanques G, Berthet JP, Rabuel C, et al. Rapidly progressive diaphragmatic weakness and injury during mechanical ventilation in humans. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;183(3):364-71.
8. Anzueto A, Peters JL, Tobin MJ, de los Santos R, Seidenfeld JJ, Moore G, et al. Effects of prolonged controlled mechanical ventilation on diaphragmatic function in healthy adult baboons. *Crit Care Med* 1997;25(7):1187-90.
9. Radell PJ, Remahl S, Nichols DG, Eriksson LI. Effects of prolonged mechanical ventilation and inactivity on piglet diaphragm function. *Intensive Care Med* 2002;28(3):358-64.
10. Sassoon CS, Caiozzo VJ, Manka A, Sieck GC. Altered diaphragm contractile properties with controlled mechanical ventilation. *J Appl Physiol* 2002;92(6):2585-95.
11. Capdevila X, Lopez S, Bernard N, Rabischong E, Ramonatxo M, Martinazzo G, et al. Effects of controlled mechanical ventilation on respiratory muscle contractile properties in rabbits. *Intensive Care Med* 2003;29(1):103-10.
12. Le Bourdelles G, Viïres N, Boczkowski J, Seta N, Pavlovic D, Aubier M. Effects of mechanical ventilation on diaphragmatic contractile properties in rats. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149(6):1539-44.
13. Powers SK, Shanely RA, Coombes JS, Koesterer TJ, McKenzie M, Van Gammeren D, et al. Mechanical ventilation results in progressive contractile dysfunction in the diaphragm. *J Appl Physiol* 2002;92(5):1851-8.
14. Yang L, Luo J, Bourdon J, Lin MC, Gottfried SB, Petrof BJ. Controlled mechanical ventilation leads to remodeling of the rat diaphragm. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166(8):1135-40.
15. Bernard N, Matecki S, Py G, Lopez S, Mercier J, Capdevila X. Effects of prolonged mechanical ventilation on respiratory muscle ultrastructure and mitochondrial respiration in rabbits. *Intensive Care Med* 2003;29(1):111-8.
16. McClung JM, Van Gammeren D, Whidden MA, Falk DJ, Kavazis AN, Hudson MB, et al. Apocynin attenuates diaphragm oxidative stress and protease

- activation during prolonged mechanical ventilation. *Crit Care Med* 2009;37(4):1373-9.
17. Shanely RA, Zergeroglu MA, Lennon SL, Sugiura T, Yimlamai T, Enns D, et al. Mechanical ventilation-induced diaphragmatic atrophy is associated with oxidative injury and increased proteolytic activity. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166(10):1369-74.
 18. DeRuisseau KC, Kavazis AN, Deering MA, Falk DJ, Van Gammeren D, Yimlamai T, et al. Mechanical ventilation induces alterations of the ubiquitin-proteasome pathway in the diaphragm. *J Appl Physiol* 2005;98(4):1314-21.
 19. Maes K, Testelmans D, Powers S, Decramer M, Gayan-Ramirez G. Leupeptin inhibits ventilator-induced diaphragm dysfunction in rats. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175(11):1134-8.
 20. McClung JM, Kavazis AN, DeRuisseau KC, Falk DJ, Deering MA, Lee Y, et al. Caspase-3 regulation of diaphragm myonuclear domain during mechanical ventilation-induced atrophy. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175(2):150-9.
 21. Zergeroglu MA, McKenzie MJ, Shanely RA, Van Gammeren D, DeRuisseau KC, Powers SK. Mechanical ventilation-induced oxidative stress in the diaphragm. *J Appl Physiol* 2003;95(3):1116-24.
 22. Jaber S, Sebbane M, Koechlin C, Hayot M, Capdevila X, Eledjam JJ, et al. Effects of short vs. prolonged mechanical ventilation on antioxidant systems in piglet diaphragm. *Intensive Care Med* 2005;31(10):1427-33.
 23. Reid MB. Invited Review: redox modulation of skeletal muscle contraction: what we know and what we don't. *J Appl Physiol* 2001;90(2):724-31.
 24. Zhu E, Sassoon CS, Nelson R, Pham HT, Zhu L, Baker MJ, et al. Early effects of mechanical ventilation on isotonic contractile properties and MAF-box gene expression in the diaphragm. *J Appl Physiol* 2005;99(2):747-56.
 25. Racz GZ, Gayan-Ramirez G, Testelmans D, Cadot P, De Paepe K, Zador E, et al. Early changes in rat diaphragm biology with mechanical ventilation. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;168(3):297-304.
 26. Geiger PC, Cody MJ, Macken RL, Sieck GC. Maximum specific force depends on myosin heavy chain content in rat diaphragm muscle fibers. *J Appl Physiol* 2000;89(2):695-703.
 27. Hussain SN, Mofarrahi M, Sigala I, Kim HC, Vassilakopoulos T, Maltais F, et al. Mechanical ventilation-induced diaphragm disuse in humans triggers autophagy. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;182(11):1377-86.
 28. Futier E, Constantin JM, Combaret L, Mosoni L, Roszyk L, Sapin V, et al. Pressure support ventilation attenuates ventilator-induced protein modifications in the diaphragm. *Crit Care* 2008;12(5):R116.
 29. Jung B, Constantin JM, Rossel N, Le Goff C, Sebbane M, Coisel Y, et al. Adaptive support ventilation prevents ventilator-induced diaphragmatic dysfunction in piglet: an in vivo and in vitro study. *Anesthesiology* 2010;112(6):1435-43.
 30. Gayan-Ramirez G, Testelmans D, Maes K, Racz GZ, Cadot P, Zador E, et al. Intermittent spontaneous breathing protects the rat diaphragm from mechanical ventilation effects. *Crit Care Med* 2005;33(12):2804-9.
 31. Sassoon CS, Zhu E, Caiozzo VJ. Assist-control mechanical ventilation attenuates ventilator-induced diaphragmatic dysfunction. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170(6):626-32.
 32. Similowski T, Fleury B, Launois S, Cathala HP, Bouche P, Derenne JP. Cervical magnetic stimulation: a new painless method for bilateral phrenic nerve stimulation in conscious humans. *J Appl Physiol* 1989;67(4):1311-8.

33. Pavlovic D, Wendt M. Diaphragm pacing during prolonged mechanical ventilation of the lungs could prevent from respiratory muscle fatigue. *Med Hypotheses* 2003;60(3):398-403.
34. Vivodtzev I, Pepin JL, Vottero G, Mayer V, Porsin B, Levy P, et al. Improvement in quadriceps strength and dyspnea in daily tasks after 1 month of electrical stimulation in severely deconditioned and malnourished COPD. *Chest* 2006;129(6):1540-8.
35. Roig M, Reid WD. Electrical stimulation and peripheral muscle function in COPD: a systematic review. *Respir Med* 2009;103(4):485-95.
36. Gerovasili V, Stefanidis K, Vitzilaios K, Karatzanos E, Politis P, Koroneos A, et al. Electrical muscle stimulation preserves the muscle mass of critically ill patients: a randomized study. *Crit Care* 2009;13(5):R161.
37. Routsis C, Gerovasili V, Vasileiadis I, Karatzanos E, Pitsolis T, Tripodaki E, et al. Electrical muscle stimulation prevents critical illness polyneuromyopathy: a randomized parallel intervention trial. *Crit Care* 2010;14(2):R74.
38. Sander BH, Dieck T, Homrighausen F, Tschan CA, Steffens J, Raymondos K. Electromagnetic ventilation: first evaluation of a new method for artificial ventilation in humans. *Muscle Nerve* 2010;42(3):305-10.

DEUXIEME PARTIE (Manuscrit accepté dans Applied Physiology, Nutrition and Metabolism)

Repetitive magnetic stimulation of the phrenic nerves for diaphragm conditioning:

a normative study of feasibility and optimal settings

Dan ADLER^{1,2,3}, MD; Stewart B. GOTTFRIED^{2,4}, MD, PHD; Nathalie BAUTIN^{2,5}, MD;
Tomislav MIRKOVIC⁶, MD; Matthieu SCHMIDT², MD; Mathieu RAUX^{2,7}, MD, PHD;
Dragan PAVLOVIC^{2,8}
Thomas SIMILOWSKI^{1,2}, MD, PHD; Alexandre DEMOULE^{1,2}, MD, PHD;

¹Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Service de Pneumologie et Réanimation et Centre de Neurostimulation Respiratoire, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France.

²Université Paris 6 - Pierre et Marie Curie, ER10 Paris, France.

³Service de pneumologie, Hôpitaux Universitaires de Genève, Genève, Suisse.

⁴Divisions of Respiratory and Critical Care Medicine, Department of Medicine, McGill University Health Centre, Meakins-Christie Laboratories, McGill University, Montreal, Quebec, Canada.

⁵Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Service Central d'Explorations Fonctionnelles Respiratoires, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France.

⁶Clinical Departments for Anesthesiology and Surgical Intensive Care, University Medical Center, Ljubljana, Slovenia.

⁷Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Département d'Anesthésie - Réanimation, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France.

⁸Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Ernst-Moritz-Arndt University, Greifswald, Germany.

Running head: Repetitive magnetic phrenic stimulation

Funding : The study was supported by the non-profit *Association pour le Développement et l'Organisation de la Recherche en Pneumologie* and by a grant from the « *Legs Poix* », *Chancellerie de l'Université de Paris*. Dan Adler was supported by association *ANTADIR, France*, and the *Fonds de Perfectionnement du Département de Médecine Interne, Hôpitaux Universitaires de Genève, Switzerland*. Inomed GmbH (Germany) lent the repetitive magnetic stimulator used in this study.

Abstract

Electrical stimulation can enhance muscle function. We applied repetitive cervical magnetic phrenic stimulation (rCMS) to induce diaphragm contractions in 7 healthy subjects (800 ms trains; transdiaphragmatic pressure (Pdi) measurements ; tolerance ratings). Each rCMS train produced a sustained diaphragm contraction. 65% of the maximal available output at 15 Hz proved the best compromise between Pdi and discomfort, with non-fatiguing contractions. rCMS appears feasible and should be investigated for diaphragm conditioning in appropriate clinical populations.

Introduction

Neuromuscular electrical stimulation can enhance muscle function, prevent muscle atrophy, and contribute to cardiopulmonary conditioning (Sheffler and Chae 2007). It can be used as an alternative to exercise in patients suffering from cardiac or respiratory conditions too severe to allow active rehabilitation (Vivodtzev, Pepin et al. 2006; Roig and Reid 2009; Bustamante, Lopez de Santa Maria et al. 2010; Sbruzzi, Ribeiro et al. 2010). Neuromuscular electrical stimulation could also be useful in critically ill patients (Gerovasili, Stefanidis et al. 2009) including those with critical illness related polyneuromyopathy (Routsi, Gerovasili et al. 2010). To date, neuromuscular electrical stimulation has mainly been applied to locomotor muscles, and occasionally to the abdominal muscles (Alon, McCombe et al. 1987) to improve their expiratory action (Lin, Hsiao et al. 2001).

Reconditioning the diaphragm or preserving it from atrophy could be relevant in various clinical contexts. In particular, this concern could rapidly emerge in critically ill patients receiving mechanical ventilation (MV). Indeed, MV is the cornerstone of the treatment of acute respiratory failure, but it is associated with structural and functional diaphragmatic damages proceeding from disuse and inflammation (Levine, Nguyen et al. 2008; Petrof, Jaber et al. 2010; Jaber, Petrof et al. 2011). Respiratory muscle weakness can also stem from critical illness polyneuromyopathy and make weaning from MV difficult (De Jonghe, Bastuji-Garin et al. 2007; Hermans, Agten et al. 2010).

Preserving spontaneous respiratory activity during MV could help spare the diaphragm (Sassoon, Zhu et al. 2004; Futier, Constantin et al. 2008; Jung, Constantin et al. 2010). However, this may not always be possible or sufficient, and neurostimulation could also be proposed (Pavlovic and Wendt 2003). Direct electrostimulation of the diaphragm is not feasible. Transcutaneous electrical

stimulation of the phrenic nerves in the neck is too painful. Because magnetic stimulation of the phrenic nerves is painless (Similowski, Fleury et al. 1989; American Thoracic Society/European Respiratory Society Statement 2002), repetitive magnetic stimulation could offer an alternative choice. Its feasibility has recently been demonstrated in a study conducted in normal volunteers (Sander, Dieck et al. 2010) that showed that diaphragm contractions strong and sustained enough to produce ventilation could be induced. This study did not, however, provide detailed physiological information on the diaphragmatic contractions induced. Yet for phrenic nerve stimulation to become a useful neurostimulation tool for diaphragm conditioning, it is absolutely crucial that it does not induce diaphragm fatigue and the corresponding muscle damage.

We therefore designed the present study to test the hypothesis that repetitive cervical magnetic stimulation of the phrenic nerves (rCMS) could be achieved tolerably under non-fatiguing conditions and to determine the corresponding optimal stimulation parameters. This was done in normal volunteers during spontaneous breathing and during non-invasive ventilation (NIV). We also assessed the issue of phrenic stimulation induced upper airway collapse (Series, Demoule et al. 1999).

Materials and Methods

Subjects

Seven healthy subjects (5 men, 2 women, age 29-56, 170-192 cm, 57-90 kg, BMI 21.9 ± 2.9 kg/m²) gave their written informed consent to participate, after external approval (Comité de Protection des Personnes Ile-de-France 6, Paris, France).

Measurements

Esophageal (Pes) and gastric (Pga) pressures were measured with balloon catheters (C76080U, Marquat, France) connected to ± 100 cm H₂O linear differential pressure transducers (Validyne, Northridge, CA, USA). Transdiaphragmatic pressure (Pdi) was determined by subtraction of Pes from Pga. Airflow was measured using a heated pneumotachograph (3700A series, 0-160 l.min⁻¹, Hans Rudolf, Kansas City, MO, USA), connected to a linear ± 5 cm H₂O differential pressure transducer (same supplier).

Surface recordings of the diaphragm electromyogram (EMG) were obtained using surface silver cup electrodes placed bilaterally in the sixth and seventh intercostal spaces on the midclavicular line (Verin, Straus et al. 2002) and connected to a Neuropack® electromyograph (Nihon Kohden, Tokyo, Japan).

The tolerance of rCMS was evaluated with a 10 cm visual analogue scale (VAS) (from “no discomfort to “intolerable discomfort”). This was done immediately after each train of repetitive cervical magnetic stimulation (see below).

Repetitive Cervical Magnetic Stimulation (rCMS)

Bilateral phrenic nerve stimulation was achieved using the cervical magnetic stimulation approach (Similowski, Fleury et al. 1989). A circular 90 mm coil centred over the spinous process of the seventh cervical vertebra (Figure 1) (Magstim Rapid Rate-Dual PSU stimulator, Dyfed, Wales, UK) with a maximum power output of 3.5 Tesla. The subjects were studied comfortably seated in an examination chair, in a semi-recumbent position, with the abdomen unbound. All measurements were repeated three times in each subject and averaged before obtaining the inter-subjects means and standard errors.

Step 1—recruitment curves. We used single pulse CMS of increasing intensity to construct EMG and twitch Pdi (Pdi,t) recruitment curves under isovolume conditions,

namely with the airway closed. Stimulations were administered at the end of relaxed expirations.

Step 2—pressure-frequency relationships. We built isovolume pressure-frequency relationships for Pes, Pga, and Pdi using 800 ms trains of rCMS at 1, 5, 10, 15, 20, 25, and 30Hz, at different intensities (50%, 65%, 80%, and 100% of maximal output), also with the airway closed and at the end of relaxed expirations.

Step 3—upper airway collapse. We assessed the effects of 800ms trains of 15 Hz rCMS at 65% and 85% of the maximal stimulator output (two combinations producing the highest Pdi values with a VAS discomfort rating below 3) on upper airway patency by delivering rCMS to open-glottis subjects breathing through a mouthpiece.

Step 4—interaction with mechanical ventilation. Finally, we superimposed rCMS—same two combinations as above—upon positive pressure ventilation delivered through a face mask (Performatrak, Respironics, Murrysville, PA) by a Servo-i ventilator (Maquet SA, Solna, Sweden ; 10 cmH₂O inspiratory pressure support, 2 cmH₂O PEEP, 21% FiO₂).

During steps 2 to 4 above, the fused nature of the induced diaphragm contractions was determined from visual inspection of the Pdi curve. Fusion was considered present when no visible pressure drop was seen between two stimuli.

Maximal transdiaphragmatic pressure

Maximal values of volitional Pdi (Pdi,max) were measured using combined Mueller-expulsive manoeuvres (Laporta and Grassino 1985). The corresponding data are available in only 5 of the 7 subjects for technical reasons.

Statistical Analysis

It was performed using Prism4® (GraphPad, San Diego, CA, USA). All data distributions being normal (Shapiro-Wilk test) the results are described as mean ±

standard error, and parametric statistical tests are used. Recruitment curves were compared using a one-way analysis of variance for repeated measures followed, when appropriate, by Tukey's post-hoc test. Pressure-frequency curves and on tolerance were assessed using a two-way analysis of variance for repeated measures (stimulation intensity as the within group factor and subject or frequency as the between group factor) followed by Tukey's post-hoc test when appropriate. The effects of rCMS on tidal volume during positive pressure ventilation were studied with a one-way analysis of variance. Differences were considered significant when the probability P of a type I error was < 0.05 .

Results

Recruitment curves

Recruitment curves showed that single pulse CMS could produce supramaximal responses in most cases. CMS performed with the maximum output of the stimulator produced diaphragm twitches of expected amplitude ($P_{di,t}$ 25.7 ± 1.8 cm H₂O) and bilateral compound muscle action potentials of normal latencies (5.54 ± 0.18 ms on the right, 5.41 ± 0.15 ms on the left). Of note, $P_{di,max}$ values were also within the normal range in the 5 subjects in whom they were available (100.4 ± 5.9 cm H₂O), hence an average $P_{di,t}/P_{di,max}$ of 25.8 ± 1.2 %.

Pressure-frequency relationships

At any given stimulation intensity, increasing stimulation frequency increased P_{di} . There was no significant difference between 1 Hz and 5 Hz, but all the stimulation frequencies above 5 Hz produced P_{di} values significantly greater than the 1 Hz value. Beyond 5 Hz, the magnitude of the effects of increasing stimulation frequency was all the more marked that stimulation intensity was high. Thus, with a stimulation

of 50% of the maximal stimulator output, two frequency steps were needed to observe a significant difference, while with a stimulation of 100% of the maximal stimulator output significant differences were present between each frequency steps (except 20 vs 25 Hz).

Of note diaphragm contractions became fused or quasi-so at a stimulation frequency of 15 Hz (Figure 2), irrespective of stimulation intensity. This was observed in all the subjects.

At any given stimulation frequency, the Pdi response to rCMS increased with stimulation intensity (Figure 3A).

Tolerance

At a given stimulation intensity, the VAS ratings of discomfort increased with rCMS frequency (Figure 3B), with paired comparisons between frequencies being significant in most of the cases. Similarly, at a given rCMS frequency, increasing stimulation intensity significantly increased discomfort (Figure 3 B). Both the perceived intensity of the diaphragmatic contractions and the costimulation of other muscles were reported as sources of discomfort by the subjects.

Upper airway collapse

In all the subjects, rCMS applied with the mouth open and after instructing the subjects to try to keep their glottis open whilst generally relaxing, failed to reliably generate inspiratory airflow (Figure 4). This occurred in spite of the production of inspiratory pressures comparable to those obtained during the closed airway experiments. This was interpreted as resulting from upper airway collapse, as evidenced by the absence of appreciable airflow, despite the generation of substantial negative intrathoracic pressures.

Interaction with mechanical ventilation

In contrast, when superimposed on positive pressure ventilation, rCMS significantly increased tidal volume (from 635 ± 50 ml at baseline to 880 ± 59 ml for 15 Hz - 65% rCMS and 883 ± 75 ml for 15 Hz - 80% rCMS, $P < 0.05$). The tolerance of the stimulation was similar to the "baseline" tolerance when rCMS was superimposed on positive pressure ventilation.

Discussion

This study corroborates the feasibility of repetitive magnetic stimulation of the phrenic nerves and provides indications regarding a safe and tolerable way to set stimulation parameters for diaphragm conditioning.

Feasibility and tolerance —comparison with available data

Phrenic pacing studies in quadriplegic patients have demonstrated that neurostimulation is an efficient way of conditioning the human diaphragm (Glenn, Hogan et al. 1984 ; Nochomovitz, Hopkins et al. 1984; DiMarco, Onders et al. 2005), but the surgical placement of electrodes is unrealistic for temporary stimulation. In contrast, the painless and non invasive nature of magnetic stimulation makes it an adequate candidate. Early preliminary data and more recent ones have hinted at feasibility (Geddes, Mouchawar et al. 1991; Sander, Dieck et al. 2010). In these two studies (Geddes, Mouchawar et al. 1991; Sander, Dieck et al. 2010), the phrenic nerves were stimulated at the base of the neck with two separate coils of wire powered by two stimulators. Here we show that diaphragm contractions can also be produced with a single stimulator and a single coil, following the principles of cervical magnetic stimulation (Similowski, Fleury et al. 1989). Because the available studies

do not provide detailed information on the intensity-frequency-pressure relationships, the bilateral anterior and the cervical approach cannot currently be compared.

We also show that repetitive cervical magnetic stimulation is tolerable, at least by motivated, normal volunteers (see below, *Limitations*). Of note, phrenic stimulation at the base of the neck may not involve all the phrenic fibres in the presence of an accessory phrenic nerve (Verin, Marie et al. 2010), while cervical magnetic stimulation should (Similowski, Mehiri et al. 1997).

Upper airway collapse.

When the subjects were studied with their glottis open, we observed that rCMS failed to generate inspiratory airflow (Figure 4). We attribute this to complete or near complete upper airway collapse (Series, Demoule et al. 1999). This results from the lack of the upper airway dilator muscle pre-contraction that normally precedes diaphragmatic contractions (Hyland, Hutcheon et al. 1981). This is an important issue regarding the possibility of diaphragm conditioning with magnetic stimulation in patients breathing naturally. It should, however, not be a problem in intubated or tracheotomised patients. Of note, upper airway collapse did not occur during non-invasive ventilation. In this setting, magnetic stimulation actually increased tidal volume significantly, and did not obviously disrupt subject-ventilator synchrony. This bodes well for future clinical applications. Sander et al. (Sander, Dieck et al. 2010) apparently did not observe upper airway collapse and were able to produce sustained ventilation in response to repetitive phrenic stimulation. The explanations for the discrepancy between their study and ours could result from differences in neck position affecting upper airway dynamics (Verin, Series et al. 2002) or from the hyperventilation preconditioning used by Sander et al. (Sander, Dieck et al. 2010).

Stimulation settings and physiological characteristics of the diaphragm

Relatively few published data describe the pressure - frequency characteristics of the human diaphragm. Paired stimuli studies (Yan, Gauthier et al. 1993) and sustained stimulation studies (Babcock, Pegelow et al. 1995) indicate that transdiaphragmatic pressure reaches a plateau for stimulation frequencies of 20-25Hz. The values recorded in our subjects with 25Hz rCMS at 100% of the maximum stimulator output were thus likely not far from the maximal obtainable values. As a result, producing the submaximal diaphragm contractions that are likely suitable for diaphragm conditioning should not be a problem.

To conduct neurorehabilitation with electrical stimulation, it is recommended to use the minimum stimulus frequency that generates a fused muscle response (Sheffler and Chae 2007), and to modulate force generation through stimulus amplitude or pulse duration. In our subjects, fused responses were consistently observed with a stimulation frequency of 15Hz (Figure 2). Keeping the procedure tolerable implied that intensities above 80% of maximal output not be used (and ideally not above 65%). This fits with the stimulation paradigm used by Lin et al. (Lin, Hsiao et al. 2001) to condition the abdominal muscle of quadriplegic patients with magnetic stimulation of the thoracic roots (Lin, Hsiao et al. 2001). The 15Hz-65% combination used in our subjects produced Pdi values of about 20 cm H₂O, far above the Pdi levels normally produced during spontaneous breathing and therefore quite likely to suffice for diaphragm conditioning (by analogy with diaphragm pacing data in tetraplegics, see Nochomovitz, Hopkins et al. 1984; see also Ayas, McCool et al. 1999). Importantly, this corresponds to about 20% of the maximal Pdi,max values measured in 5 of our subjects. With an inspiratory time of 800 ms that would represent 20% of the respiratory period for a breathing frequency of 15 per minute, this corresponds to a pressure time product of the diaphragm of 0.04, way below the 0.20 fatigue threshold (Bellemare and Grassino 1982).

Limitations

This is a small-sized pilot study, conducted in a population of motivated volunteers. Therefore, tolerance in patients will have to be evaluated specifically. It must also be acknowledged that cervical magnetic stimulation induces a lot of muscle costimulation and may be somewhat awkward to use in supine patients because of the need to insert and properly position the stimulating coil between the patient and the bed. The use of an anterior approach (Polkey, Duguet et al. 2000) could alleviate these limitations.

Also, we did not directly address the issue of non-fatiguing contractions by generating diaphragm contractions for several hours. This would have required the use of a cooled circular stimulating coil that is not commercially available currently. The very low values of the Pdi pressure time product that we observed however make fatigue most unlikely to occur.

Perspectives

Being feasible, in a tolerable manner, with settings that do not carry the risk of inducing diaphragm fatigue, rCMS now has to be tested in the clinical field. It would however not be reasonable to simply extrapolate our results to do that, and one of the first questions to address in a clinical trial will be how to choose stimulation settings in any given patient.

In certain categories of mechanically ventilated patients (e.g. those receiving prolonged mechanical ventilation without spontaneous respiratory activity), rCMS could be assessed as a method to prevent ventilator-induced diaphragm dysfunction. Another interesting intensive care population of interest would be patients having suffered from ICU-acquired polyneuromyopathy, with the aim of accelerating weaning from mechanical ventilation. Of note, low frequency neuromuscular stimulation

promotes the development of fatigue-resistant, oxygen-dependent type I muscle fibres (Sheffler and Chae 2007). This has been shown to occur in the immature (Marzocchi, Brouillette et al. 1990) and mature (Acker, Mannion et al. 1987; Peterson, Nochomovitz et al. 1994) canine diaphragm. In humans, there is indirect evidence for such a shift. Indeed, during the reconditioning of the disused diaphragm in quadriplegic patients with implanted phrenic stimulators, the progressive increase in contractility is accompanied by a shift of the fusion-inducing stimulation frequency (Nochomovitz, Hopkins et al. 1984). This phenomenon would be particularly interesting regarding weaning from mechanical ventilation where muscle endurance is likely among the key success factors. Other categories of patients could also be considered, e.g. patients with neuralgic amyotrophy involving the phrenic nerves.

Acknowledgements

The authors thank Eric Verin and Alexandre Duguet for preliminary discussions and experiments. They also thank Eric Priol and Sabine Meyer from Inomed GmbH (Germany) for lending the repetitive magnetic stimulator used in this study. They are grateful to Paul Robinson for his help with English style and grammar.

References

(2005). "Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia." Am J Respir Crit Care Med **171**(4): 388-416.

Acker, M. A., J. D. Mannion, et al. (1987). "Canine diaphragm muscle after 1 yr of continuous electrical stimulation: its potential as a myocardial substitute." J Appl Physiol **62**(3): 1264-1270.

Alon, G., S. A. McCombe, et al. (1987). "Comparison of the effects of electrical stimulation and exercise on abdominal musculature." J Orthop Sports Phys Ther **8**(12): 567-573.

American Thoracic Society/European Respiratory Society Statement (2002). "Respiratory muscle testing." Am J Respir Crit Care Med **166**(4): 518-624.

Anzueto, A., J. I. Peters, et al. (1997). "Effects of prolonged controlled mechanical ventilation on diaphragmatic function in healthy adult baboons." Crit Care Med **25**(7): 1187-1190.

Ayas, N. T., F. D. McCool, et al. (1999). "Prevention of human diaphragm atrophy with short periods of electrical stimulation." Am J Respir Crit Care Med **159**(6): 2018-2020.

Babcock, M. A., D. F. Pegelow, et al. (1995). "Contribution of diaphragmatic power output to exercise-induced diaphragm fatigue." J Appl Physiol **78**(5): 1710-1719.

Bellemare, F. and A. Grassino (1982). "Effect of pressure and timing of contraction on human diaphragm fatigue." J Appl Physiol **53**(5): 1190-1195.

Bernard, N., S. Matecki, et al. (2003). "Effects of prolonged mechanical ventilation on respiratory muscle ultrastructure and mitochondrial respiration in rabbits." Intensive Care Med **29**(1): 111-118.

Bustamante, V., E. Lopez de Santa Maria, et al. (2010). "Muscle training with repetitive magnetic stimulation of the quadriceps in severe COPD patients." Respir Med **104**(2): 237-245.

Capdevila, X., S. Lopez, et al. (2003). "Effects of controlled mechanical ventilation on respiratory muscle contractile properties in rabbits." Intensive Care Med **29**(1): 103-110.

De Jonghe, B., S. Bastuji-Garin, et al. (2007). "Respiratory weakness is associated with limb weakness and delayed weaning in critical illness." Crit Care Med **35**(9): 2007-2015.

DeRuisseau, K. C., A. N. Kavazis, et al. (2005). "Mechanical ventilation induces alterations of the ubiquitin-proteasome pathway in the diaphragm." J Appl Physiol **98**(4): 1314-1321.

DiMarco, A. F., R. P. Onders, et al. (2005). "Phrenic nerve pacing via intramuscular diaphragm electrodes in tetraplegic subjects." Chest **127**(2): 671-678.

Dreyfuss, D. and G. Saumon (1998). "Ventilator-induced lung injury: lessons from experimental studies." Am J Respir Crit Care Med **157**(1): 294-323.

Futier, E., J. M. Constantin, et al. (2008). "Pressure support ventilation attenuates ventilator-induced protein modifications in the diaphragm." Crit Care **12**(5): R116.

Gayan-Ramirez, G., D. Testelmans, et al. (2005). "Intermittent spontaneous breathing protects the rat diaphragm from mechanical ventilation effects." Crit Care Med **33**(12): 2804-2809.

Geddes, L. A., G. Mouchawar, et al. (1991). "Inspiration produced by bilateral electromagnetic, cervical phrenic nerve stimulation in man." IEEE Trans Biomed Eng **38**(10): 1047-1048.

Geiger, P. C., M. J. Cody, et al. (2000). "Maximum specific force depends on myosin heavy chain content in rat diaphragm muscle fibers." J Appl Physiol **89**(2): 695-703.

Gerovasili, V., K. Stefanidis, et al. (2009). "Electrical muscle stimulation preserves the muscle mass of critically ill patients: a randomized study." Crit Care **13**(5): R161.

Glenn, W. W., J. F. Hogan, et al. (1984). "Ventilatory support by pacing of the conditioned diaphragm in quadriplegia." N Engl J Med **310**(18): 1150-1155.

Hermans, G., A. Agten, et al. (2010). "Increased duration of mechanical ventilation is associated with decreased diaphragmatic force: a prospective observational study." Crit Care **14**(4): R127.

Hussain, S. N., M. Mofarrahi, et al. (2010). "Mechanical ventilation-induced diaphragm disuse in humans triggers autophagy." Am J Respir Crit Care Med **182**(11): 1377-1386.

Hyland, R. H., M. A. Hutcheon, et al. (1981). "Upper airway occlusion induced by diaphragm pacing for primary alveolar hypoventilation: implications for the pathogenesis of obstructive sleep apnea." Am Rev Respir Dis **124**(2): 180-185.

Jaber, S., B. J. Petrof, et al. (2011). "Rapidly progressive diaphragmatic weakness and injury during mechanical ventilation in humans." Am J Respir Crit Care Med **183**(3): 364-371.

Jaber, S., M. Sebbane, et al. (2005). "Effects of short vs. prolonged mechanical ventilation on antioxidant systems in piglet diaphragm." Intensive Care Med **31**(10): 1427-1433.

Jung, B., J. M. Constantin, et al. (2010). "Adaptive support ventilation prevents ventilator-induced diaphragmatic dysfunction in piglet: an in vivo and in vitro study." Anesthesiology **112**(6): 1435-1443.

- Laporta, D. and A. Grassino (1985). "Assessment of transdiaphragmatic pressure in humans." J Appl Physiol **58**(5): 1469-1476.
- Le Bourdelles, G., N. Viires, et al. (1994). "Effects of mechanical ventilation on diaphragmatic contractile properties in rats." Am J Respir Crit Care Med **149**(6): 1539-1544.
- Levine, S., T. Nguyen, et al. (2008). "Rapid disuse atrophy of diaphragm fibers in mechanically ventilated humans." N Engl J Med **358**(13): 1327-1335.
- Lin, V. W., I. N. Hsiao, et al. (2001). "Functional magnetic stimulation for conditioning of expiratory muscles in patients with spinal cord injury." Arch Phys Med Rehabil **82**(2): 162-166.
- Maes, K., D. Testelmans, et al. (2007). "Leupeptin inhibits ventilator-induced diaphragm dysfunction in rats." Am J Respir Crit Care Med **175**(11): 1134-1138.
- Marzocchi, M., R. T. Brouillette, et al. (1990). "Effects of continuous low-frequency pacing on immature canine diaphragm." J Appl Physiol **69**(3): 892-898.
- McClung, J. M., A. N. Kavazis, et al. (2007). "Caspase-3 regulation of diaphragm myonuclear domain during mechanical ventilation-induced atrophy." Am J Respir Crit Care Med **175**(2): 150-159.
- McClung, J. M., D. Van Gammeren, et al. (2009). "Apocynin attenuates diaphragm oxidative stress and protease activation during prolonged mechanical ventilation." Crit Care Med **37**(4): 1373-1379.
- Michard, F., D. Chemla, et al. (1999). "Clinical use of respiratory changes in arterial pulse pressure to monitor the hemodynamic effects of PEEP." Am J Respir Crit Care Med **159**(3): 935-939.
- Nochomovitz, M. L., M. Hopkins, et al. (1984). "Conditioning of the diaphragm with phrenic nerve stimulation after prolonged disuse." Am Rev Respir Dis **130**(4): 685-688.
- Pavlovic, D. and M. Wendt (2003). "Diaphragm pacing during prolonged mechanical ventilation of the lungs could prevent from respiratory muscle fatigue." Med Hypotheses **60**(3): 398-403.
- Peterson, D. K., M. L. Nochomovitz, et al. (1994). "Long-term intramuscular electrical activation of the phrenic nerve: safety and reliability." IEEE transactions on bio-medical engineering **41**(12): 1115-1126.
- Petrof, B. J., S. Jaber, et al. (2010). "Ventilator-induced diaphragmatic dysfunction." Curr Opin Crit Care **16**(1): 19-25.
- Polkey, M. I., A. Duguet, et al. (2000). "Anterior magnetic phrenic nerve stimulation: laboratory and clinical evaluation." Intensive Care Med **26**(8): 1065-1075.

Powers, S. K., R. A. Shanely, et al. (2002). "Mechanical ventilation results in progressive contractile dysfunction in the diaphragm." J Appl Physiol **92**(5): 1851-1858.

Racz, G. Z., G. Gayan-Ramirez, et al. (2003). "Early changes in rat diaphragm biology with mechanical ventilation." Am J Respir Crit Care Med **168**(3): 297-304.

Radell, P. J., S. Remahl, et al. (2002). "Effects of prolonged mechanical ventilation and inactivity on piglet diaphragm function." Intensive Care Med **28**(3): 358-364.

Reid, M. B. (2001). "Invited Review: redox modulation of skeletal muscle contraction: what we know and what we don't." J Appl Physiol **90**(2): 724-731.

Roig, M. and W. D. Reid (2009). "Electrical stimulation and peripheral muscle function in COPD: a systematic review." Respir Med **103**(4): 485-495.

Routsi, C., V. Gerovasili, et al. (2010). "Electrical muscle stimulation prevents critical illness polyneuromyopathy: a randomized parallel intervention trial." Crit Care **14**(2): R74.

Sander, B. H., T. Dieck, et al. (2010). "Electromagnetic ventilation: first evaluation of a new method for artificial ventilation in humans." Muscle Nerve **42**(3): 305-310.

Sassoon, C. S., V. J. Caiozzo, et al. (2002). "Altered diaphragm contractile properties with controlled mechanical ventilation." J Appl Physiol **92**(6): 2585-2595.

Sassoon, C. S., E. Zhu, et al. (2004). "Assist-control mechanical ventilation attenuates ventilator-induced diaphragmatic dysfunction." Am J Respir Crit Care Med **170**(6): 626-632.

Sbruzzi, G., R. A. Ribeiro, et al. (2010). "Functional electrical stimulation in the treatment of patients with chronic heart failure: a meta-analysis of randomized controlled trials." Eur J Cardiovasc Prev Rehabil **17**(3): 254-260.

Series, F., A. Demoule, et al. (1999). "Inspiratory flow dynamics during phrenic nerve stimulation in awake normals during nasal breathing." Am J Respir Crit Care Med **160**(2): 614-620.

Shanely, R. A., M. A. Zergeroglu, et al. (2002). "Mechanical ventilation-induced diaphragmatic atrophy is associated with oxidative injury and increased proteolytic activity." Am J Respir Crit Care Med **166**(10): 1369-1374.

Sheffler, L. R. and J. Chae (2007). "Neuromuscular electrical stimulation in neurorehabilitation." Muscle Nerve **35**(5): 562-590.

Similowski, T., B. Fleury, et al. (1989). "Cervical magnetic stimulation: a new painless method for bilateral phrenic nerve stimulation in conscious humans." J Appl Physiol **67**(4): 1311-1318.

Similowski, T., S. Mehiri, et al. (1997). "Comparison of magnetic and electrical phrenic nerve stimulation in assessment of phrenic nerve conduction time." J Appl Physiol **82**(4): 1190-1199.

- Vassilakopoulos, T. and B. J. Petrof (2004). "Ventilator-induced diaphragmatic dysfunction." Am J Respir Crit Care Med **169**(3): 336-341.
- Verin, E., J. P. Marie, et al. (2010). "Cartography of human diaphragmatic innervation: Preliminary data." Respir Physiol Neurobiol.
- Verin, E., F. Series, et al. (2002). "Effects of neck flexion and mouth opening on inspiratory flow dynamics in awake humans." J Appl Physiol **92**(1): 84-92.
- Verin, E., C. Straus, et al. (2002). "Validation of improved recording site to measure phrenic conduction from surface electrodes in humans." J Appl Physiol **92**(3): 967-974.
- Vivodtzev, I., J. L. Pepin, et al. (2006). "Improvement in quadriceps strength and dyspnea in daily tasks after 1 month of electrical stimulation in severely deconditioned and malnourished COPD." Chest **129**(6): 1540-1548.
- Wunsch, H., W. T. Linde-Zwirble, et al. (2010). "The epidemiology of mechanical ventilation use in the United States." Crit Care Med **38**(10): 1947-1953.
- Yan, S., A. P. Gauthier, et al. (1993). "Force-frequency relationships of in vivo human and in vitro rat diaphragm using paired stimuli." Eur Respir J **6**(2): 211-218.
- Yang, L., J. Luo, et al. (2002). "Controlled mechanical ventilation leads to remodeling of the rat diaphragm." Am J Respir Crit Care Med **166**(8): 1135-1140.
- Zergeroglu, M. A., M. J. McKenzie, et al. (2003). "Mechanical ventilation-induced oxidative stress in the diaphragm." J Appl Physiol **95**(3): 1116-1124.
- Zhu, E., C. S. Sassoon, et al. (2005). "Early effects of mechanical ventilation on isotonic contractile properties and MAF-box gene expression in the diaphragm." J Appl Physiol **99**(2): 747-756.

Figures

Figure 1



Figure 2

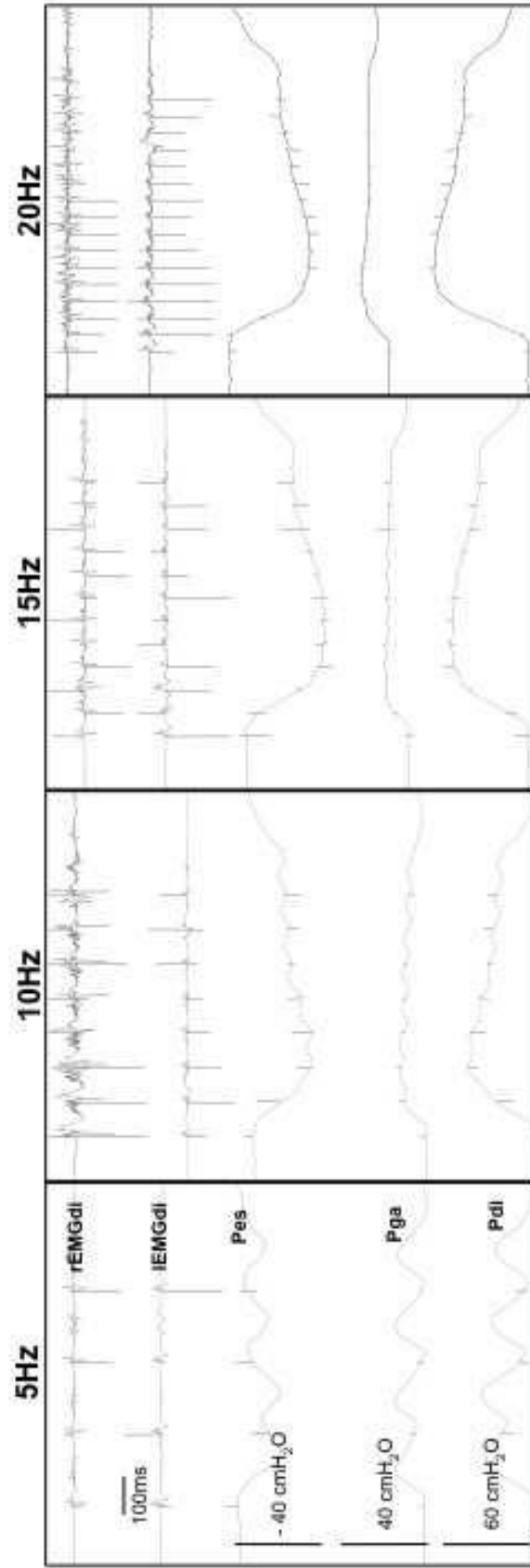


Figure 3

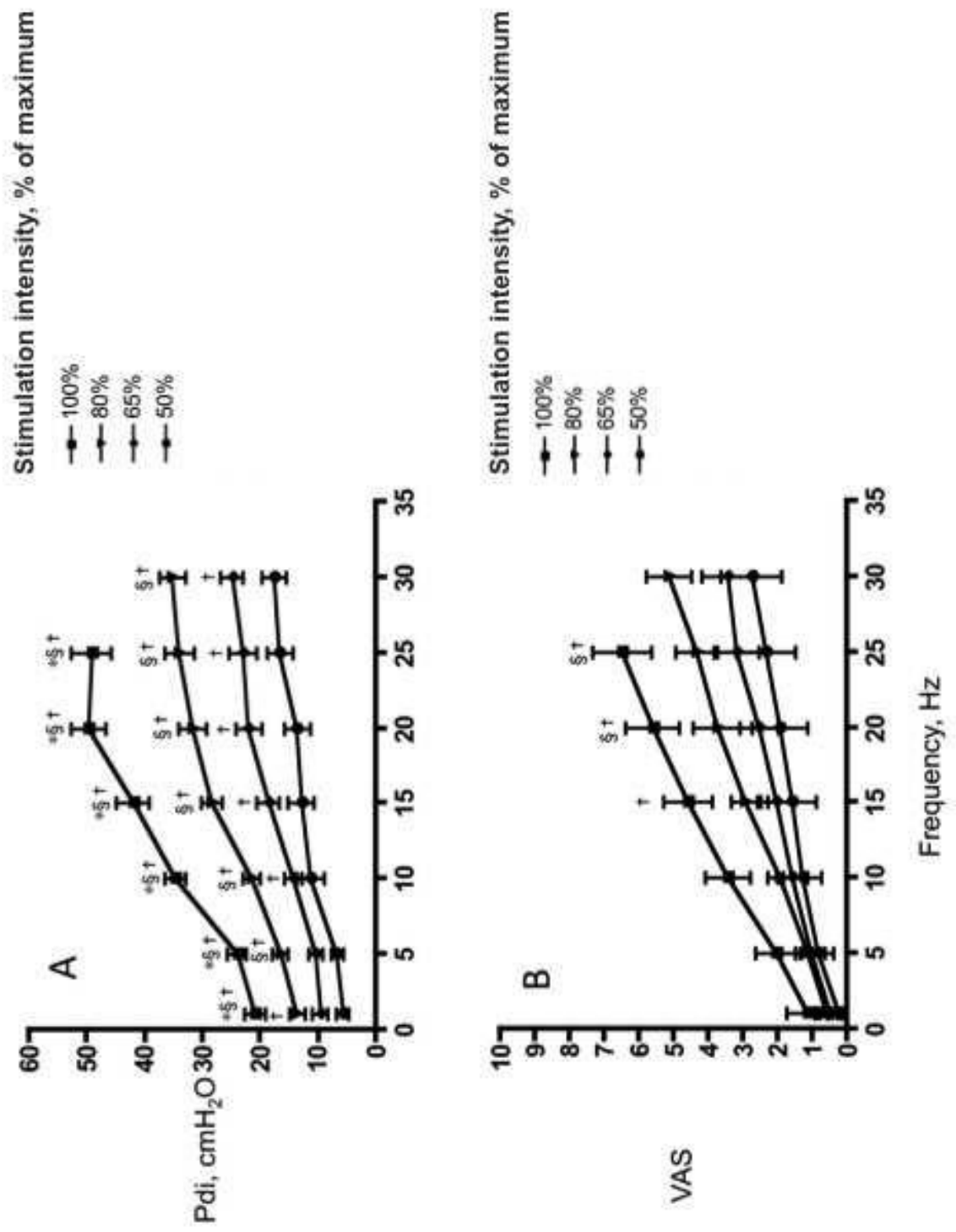


Figure 4

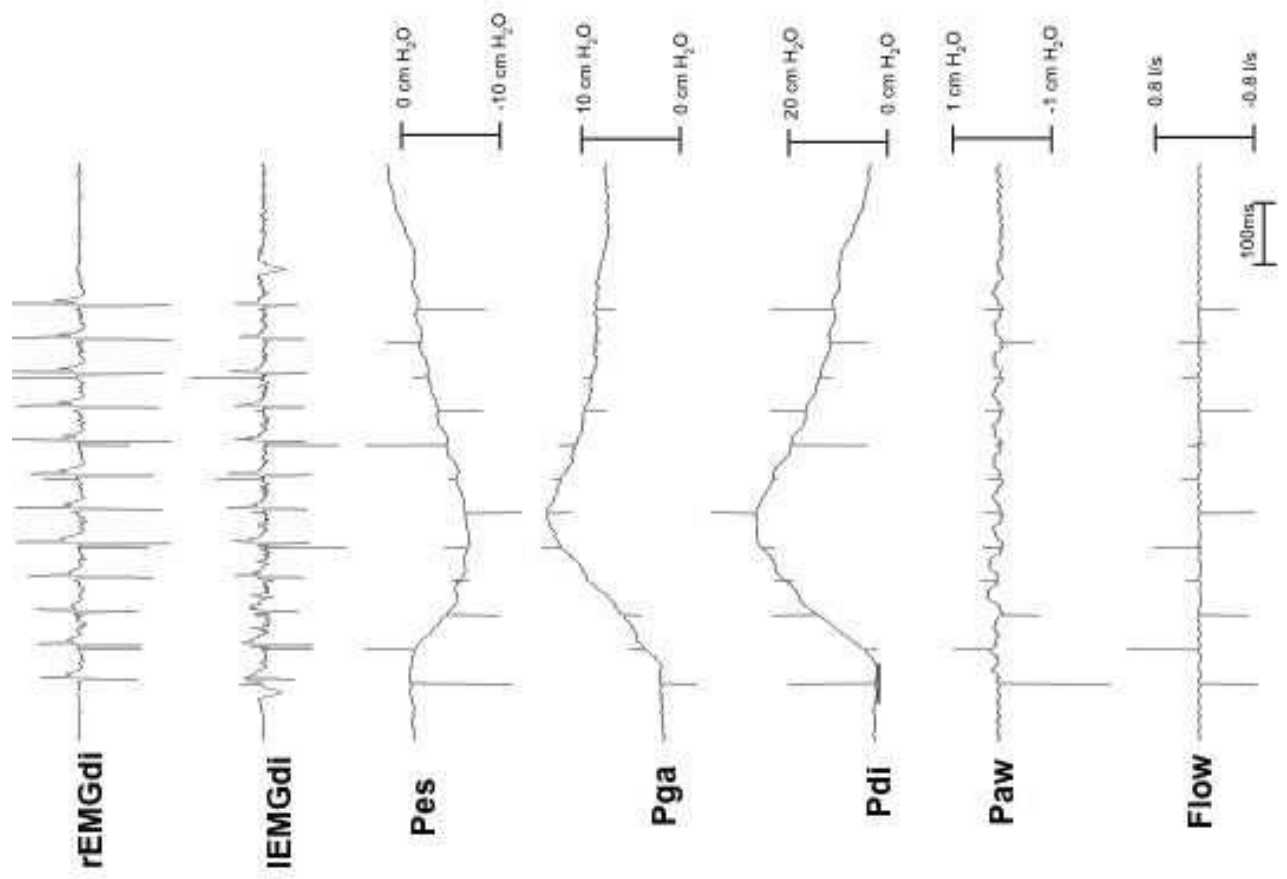


Figure Legends

Figure 1. Experimental setup (left) and 90mm “doughnut” coil used for repetitive cervical magnetic stimulation (right).

Figure 2. Esophageal (Pes), gastric (Pga), and transdiaphragmatic (Pdi) pressure in response to varying stimulation frequency during repetitive cervical magnetic stimulation of the phrenic nerves delivered under the form of 800 ms trains and at the maximal output of the stimulator (subject # 2). Surface recordings of the diaphragmatic electromyogram on the right (rEMGdi) and left (lEMGdi) sides are also shown (top two traces). The vertical lines that disrupt the EMG recordings correspond to stimulation artefacts. Fusion of diaphragmatic contractions is apparent at 15 Hz. In this particular subject, increasing stimulation frequency to 25 or 30 Hz did not increase Pdi.

Figure 3. Effects of varying stimulation intensity and frequency during repetitive cervical magnetic stimulation of the phrenic nerves on A) transdiaphragmatic pressure (Pdi) and B) discomfort assessed using a 10 cm visual analogical scale (VAS). Values are mean $\pm$ SEM. The symbols *, § and † denote a significant difference ($p < 0.05$) versus 80%, 65%, and 50%, respectively, of maximal stimulation intensity (I_{max}).

Figure 4. Esophageal (Pes), gastric (Pga), transdiaphragmatic (Pdi), airway opening (Paw) pressure and flow in response to 800 ms train of repetitive magnetic phrenic nerve stimulation delivered at 15 Hz with an intensity of 80% of maximal stimulator output (subject # 3). Surface recordings of the diaphragmatic electromyogram on the right (rEMGdi) and left (lEMGdi) sides are also shown (top two traces). The vertical lines that disrupt the EMG recordings correspond to stimulation artefacts. Upper airway closure is evidenced by the absence of flow (bottom trace) despite the negative intrathoracic pressure generated by diaphragm contractions.