

---

**ACADÉMIE D'AIX-MARSEILLE**  
**UNIVERSITÉ D'AVIGNON ET DES PAYS DE VAUCLUSE**

**THÈSE**

Présentée à l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse

Pour obtenir le grade de

**DOCTEUR**

École doctorale n° 536 « *Sciences et Agrosociétés* »

SPÉCIALITÉ :

**Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives**

**Dysfonctions cardiaques transitoires induites par un exercice  
physique prolongé**

Exploration mécanistique par une approche translationnelle

Par

**Damien VITIELLO**

**Soutenue le 7 décembre 2011 devant le jury composé de :**

<b>M. Luc DEMAISON, CR1-HDR à l'INSERM U1055 de Grenoble</b>	<b>Rapporteur</b>
<b>M. Stéphane LAFFITE, Professeur à l'Université de Bordeaux 2</b>	<b>Rapporteur</b>
<b>M. Rob SHAVE, Professeur à Cardiff Metropolitan University</b>	<b>Examineur</b>
<b>M. Pascal LAURANT, Professeur à l'Université d'Avignon</b>	<b>Examineur</b>
<b>M. Stéphane NOTTIN, MCF-HDR à l'Université d'Avignon</b>	<b>Directeur de thèse</b>

---

**"Choisis un travail que tu aimes et tu n'auras pas à travailler  
un seul jour de ta vie." Confucius (孔子)**

# Remerciements

J'aimerais en tout premier lieu adresser mes remerciements à celui qui parfois, s'est arraché les cheveux et pris quelques montées d'adrénaline mais aussi et surtout m'a permis de réaliser ce travail de doctorat dans de bonnes conditions : j'ai dénommé mon directeur de thèse, le Dr Stéphane NOTTIN. À tes côtés Steph, j'ai compris que la recherche était une affaire de patience, de réflexion et de persévérance. Comme tu as dû t'en rendre compte, je suis quelqu'un de passionné, de très impliqué et fonceur dans mon travail et par ton encadrement j'ai pu apprendre au cours de ces trois ans comment il fallait envisager le travail de chercheur. La démarche du chercheur n'est pas d'accumuler des tonnes de nouveaux savoirs mais plutôt de prendre le temps de les analyser et de les comprendre afin d'en tirer les meilleures conclusions pour l'avenir. Je suis content d'avoir partagé cette expérience de thésard avec toi, même si parfois nous avons eu des petits différents, souvent à cause de nos méthodes de travail opposées qui faisaient que, par moment, j'aurais aimé avancer un peu plus vite. Je n'oublierai pas ces petits instants de rigolade dans nos aller-retour à Nîmes ainsi qu'au cours de nos études à Besançon autour d'une « boîte chaude » et à Chamonix autour d'une énorme raclette !! Sur ces mots Steph : merci.

Au Pr. Philippe OBERT, directeur du laboratoire EA 4278 « Pharm-Écologie Cardiovasculaire » d'Avignon, de m'avoir permis d'intégrer son équipe et ses locaux pour réaliser cette thèse. Philippe, je ne sais pas si tu te souviens du petit grenoblois qui t'avais sollicité pour une candidature en tant que doctorant dans ton labo et à qui tu avais dit : « honnêtement les étudiants extérieurs à l'Académie sont bien vus pour la bourse ministérielle cette année, alors je ne voudrais pas t'influencer mais franchement n'hésites pas, postules, et je pense que tu ne seras pas déçu ». Aujourd'hui je peux dire que ton influence a été positive car elle m'a permis de faire mes premiers pas dans ma carrière de chercheur.

À l'équipe du Pr. REGNARD de l'EA 3920 « Physiopathologie cardiovasculaire et prévention » de Besançon et plus particulièrement au Pr. TORDI ainsi qu'à ses deux doctorants Johan et Arnaud pour leur collaboration à l'étude n°1 de ma thèse.

Je n'oublie pas également d'exprimer ma gratitude envers la Société Française de Cardiologie qui nous a permis de réaliser cette étude par l'attribution de la bourse de recherche Cœur et Sport 2010, financée par la société Sanofi-Aventis.

À l'équipe du Pr. BELLI de l'EA 4338 « Laboratoire de Physiologie de l'Exercice » de Saint-Étienne et plus particulièrement au Pr. Millet pour avoir organisé le recrutement des sujets de notre étude n°2, participants à l'événement The North Face® Ultra-Trail du Mont-BlancTMB® 2009. À cet effet, je tenais à remercier tous les membres de l'organisation de l'UTMB® 2009, l'équipe médicale ainsi que le Club Mont-Blanc Cœur et Sport et plus particulièrement le Dr BUSSIÈRE pour ses conseils et son implication dans notre étude.

Je ne saurais continuer sans évoquer le Pr. DAUZAT de l'EA 2992 « Dynamique des Incohérences Cardio-Vasculaires » du CHU de Nîmes auquel j'associe le Dr SCHUSTER afin de les remercier pour leurs conseils et leur aide précieuse dans la compréhension du fonctionnement cardiaque et l'analyse des données échocardiographiques recueillies au cours des études n°1 et n°2.

Un grand merci à toutes les personnes qui ont collaboré avec nous pour réaliser l'étude n°3. Ici, je tenais à remercier le Dr POLGE du laboratoire de biochimie du CHU de Nîmes pour avoir réalisé les dosages des cTnI, l'équipe du Pr. MONNIER de l'EA 2993 : « Nutrition et Athérogénèse Humaine » de Montpellier et plus précisément le Dr GOUX pour son aide sur le dosage des MDA et l'analyse de l'activité de la NADPH oxydase et l'équipe du Pr. Faure de l'unité INSERM U1040 de Grenoble pour le dosage des catécholamines plasmatiques.

Aux membres de l'équipe EA 4278, Agnès, Amina, Catherine, Cyril, Gregs, M, Mister Guillaume VValther, Julien « Bonhomme », Pascal, Sandrine du haut, Sandrine du bas, Stéphane le grenoblois, aux membres du département STAPS, Ghihem, J-P l'heureux retraité, Marie-Françoise, Pascale et aux membres du pôle sportif, plus particulièrement Allal, Julie et Yannick. Merci pour votre accueil et votre collaboration.

À toi Luc, sans qui je ne serais pas en thèse aujourd'hui.

À tous mes amis que j'ai découvert dans ces trois années, David l'espagnol, Eddy le wallaby déconneur de l'autre bout du monde et Fayç et Sab mes deux p'tites épices orientales pour votre soutien et les moments partagés dans les soirées qu'on a pu se faire pour décompresser...parce que des fois ça fait du bien !!

À tous mes amis de près ou de loin, je pense à mes vieux « potos » mon gros Charles, ma Mie, mon couillon de Fab, aussi à toi Cédric le fondu de l'OM avec qui j'ai apprécié bossé à FT l'été, Anne avec qui les confidences sont toujours très passionnantes et enfin à mes p'tits loulous Tic et Tac et Pat et Tic alias Sim et Momo et Yanni et Mimie pour votre soutien, votre bonne humeur et votre écoute qui ont été très importants pour moi tout au long de cette thèse. À cet effet, un petit clin d'œil à Pierre et Nathalie.

À toute ma famille qui a suivi mes aventures de près ou de loin aux quatre coins du monde, je ne vous cite pas tous mais sachez que vous m'avez tous apporté pour que j'en arrive jusque là.

J'aimerais avoir une attention particulière pour toi mon frerot, toi ma belle sœur, vous mes p'tits asticots et vous deux maman et papa. Je ne saurais exprimer tout ce que vous m'avez apporté depuis ces longues années, mais sachez que si j'en suis là aujourd'hui je le dois en grande partie grâce à vous, votre soutien, vos encouragements même si parfois je ne les méritais pas. Je ne saurais assez vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour moi et je vous dédie en partie ce mémoire en reconnaissance à tout cela.

Et enfin, à toi ma puce qui a suivi au plus près cette aventure passionnante, dans les bons comme dans les moments les plus douloureux. Tu as su m'épauler, me soutenir, être mon oxygène quand j'étouffais, être là à mes côtés tout simplement. Je t'aime.

Cette thèse est aussi pour toi mamie Giacomina qui me regarde depuis là-haut. La vie a fait que tu n'as pas pu voir ton petit-fils devenir docteur, mais je suis sûre que tu en aurais été très fière. Tu seras à jamais dans mon cœur.

# Sommaire

<b>REMERCIEMENTS.....</b>	<b>2</b>
<b>SOMMAIRE .....</b>	<b>5</b>
<b>LISTES DES ABREVIATIONS .....</b>	<b>10</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>12</b>
<b>REVUE DE LA LITTERATURE.....</b>	<b>16</b>
<b>PARTIE I : CARACTERISATION DE LA FATIGUE CARDIAQUE INDUITE PAR UN EXERCICE PHYSIQUE PROLONGE .....</b>	<b>18</b>
1. GENERALITES .....	19
1.1. <i>Morphologie cardiaque.....</i>	20
1.2. <i>Le myocarde .....</i>	21
1.3. <i>Orientation des fibres myocardiques du VG.....</i>	23
1.4. <i>Cycle cardiaque.....</i>	25
1.5. <i>Tissu nodal et automatisme cardiaque.....</i>	27
2. ÉVALUATIONS DE LA FONCTION CARDIAQUE PAR ECHOCARDIOGRAPHIE.....	28
2.1. <i>Fonction systolique .....</i>	28
2.2. <i>Fonction diastolique.....</i>	31
3. DYSFONCTIONS VENTRICULAIRES ET EXERCICE PHYSIQUE PROLONGE .....	35
3.1. <i>Préambule .....</i>	35
3.2. <i>Effet de la durée de l'exercice physique sur la fonction ventriculaire gauche ....</i>	36

3.3. <i>Effet de la durée de l'exercice physique sur la fonction ventriculaire droite</i> .....	43
4. SYNTHÈSE .....	45
<b>PARTIE II : APPROCHE CLINIQUE DES DETERMINANTS DE LA FATIGUE</b>	
<b>CARDIAQUE</b> .....	<b>46</b>
1. GENERALITES .....	47
2. FONCTION MYOCARDIQUE ET SPECKLE TRACKING ECHOCARDIOGRAPHY .....	48
2.1. <i>Les déformations normales et les contraintes de cisaillement du VG</i> .....	48
2.2. <i>Apport du STE dans l'évaluation de la mécanique ventriculaire gauche</i> .....	53
3. EXERCICE PHYSIQUE PROLONGE ET SPECKLE TRACKING ECHOCARDIOGRAPHY .....	62
4. SYNTHÈSE ET PRESENTATION DES ETUDES CLINIQUES .....	67
<b>PARTIE III : APPROCHE FONDAMENTALE DES DETERMINANTS DE LA</b>	
<b>FATIGUE CARDIAQUE</b> .....	<b>70</b>
1. GENERALITES .....	71
2. CARACTERISATION DE LA FATIGUE CARDIAQUE INDUITE PAR UN EXERCICE PHYSIQUE	
PROLONGE CHEZ L'ANIMAL .....	72
2.1. <i>Modèles animaux utilisés pour caractériser la fatigue cardiaque</i> .....	72
2.2. <i>Indices mesurés</i> .....	73
3. MECANISMES PHYSIOLOGIQUES POTENTIELLEMENT RESPONSABLES DE LA FATIGUE	
CARDIAQUE INDUITE PAR UN EXERCICE PHYSIQUE PROLONGE .....	76
3.1. <i>Altération de l'ultrastructure myocardique</i> .....	76
3.2. <i>Désensibilisation de la voie <math>\beta</math>-adrénergique</i> .....	81
3.3. <i>Stress oxydant</i> .....	85
3.4. <i>Altération de l'homéostasie calcique cardiaque</i> .....	91

4.	SYNTHESE ET PRESENTATION DE L'ETUDE FONDAMENTALE .....	96
<b>MATERIELS ET METHODES .....</b>		<b>98</b>
1.	BILANS ECHOCARDIOGRAPHIQUES .....	102
1.1.	Évaluations échocardiographiques standards .....	102
1.2.	Évaluations par Doppler tissulaire .....	105
1.3.	Évaluations par Speckle Tracking Echocardiography.....	106
1.4.	Relecture et retraitement des données recueillies grâce aux techniques échocardiographiques.....	106
2.	METHODOLOGIE SPECIFIQUE MISE EN PLACE POUR L'ETUDE N°1.....	111
2.1.	Population d'étude .....	111
2.2.	Design expérimental de l'étude n°1 .....	112
2.3.	Évaluations cardiovasculaires pendant l'exercice prolongé de 3 heures.....	114
3.	METHODOLOGIE SPECIFIQUE MISE EN PLACE POUR L'ETUDE N°2.....	115
3.1.	Population de l'étude .....	115
3.2.	Design expérimental de l'étude n°2 .....	116
3.3.	Évaluations échocardiographiques réalisées avant et après UTMB® .....	117
3.4.	Évaluations des marqueurs de dommages cellulaires myocardiques avant et après l'UTMB® .....	118
3.5.	Évaluations du volume plasmatique et de la volémie .....	119
4.	METHODOLOGIE MISE EN PLACE POUR L'ETUDE N°3 .....	120
4.1.	Population d'étude .....	120
4.2.	Protocole expérimental de l'EPP.....	122
4.3.	Évaluations de la fonction cardiaque chez le rat.....	123



5. ÉVALUATION DE L'IMPLICATION DE LA VOIE $\beta$ -ADRENERGIQUE DANS LA FATIGUE CARDIAQUE .....	126
6. ÉVALUATION DE L'IMPLICATION DU STRESS OXYDANT DANS LA FATIGUE CARDIAQUE	128
7. DOSAGE DES TROPONINES I CARDIAQUES DANS LE PLASMA .....	129
8. TRAITEMENTS STATISTIQUES.....	129
<b>PUBLICATIONS .....</b>	<b>130</b>
1. ÉTUDE N°1 .....	131
2. ÉTUDE N°2 .....	156
3. ÉTUDE N°3 .....	186
<b>DISCUSSION .....</b>	<b>193</b>
1. RESULTATS MAJEURS DE CE TRAVAIL DE DOCTORAT.....	194
2. APPORTS DES ETUDES CLINIQUES DANS LA COMPREHENSION DE LA MECANISTIQUE DES DYSFONCTIONS CARDIAQUES TRANSITOIRES INDUITES PAR UN EPP .....	194
2.1. <i>Mise en évidence de la fatigue cardiaque après un exercice de pédalage de 3 heures</i>	194
2.2. <i>Mise en évidence de dommages myocardiques et de dysfonctions ventriculaires droites après des exercices de très longue durée</i> .....	196
2.3. <i>Bilan</i> .....	200
3. APPORTS DES ETUDES FONDAMENTALES DANS LA COMPREHENSION DE LA MECANISTIQUE DES DYSFONCTIONS CARDIAQUES TRANSITOIRES INDUITES PAR UN EPP.....	201
3.1. <i>Mise en évidence d'une fatigue cardiaque induite par un EPP chez l'animal ..</i>	201
3.2. <i>Implication de la voie <math>\beta</math>-adrénergique dans la fatigue cardiaque</i> .....	202
3.3. <i>Bilan</i> .....	204

4. LIMITES DES ETUDES DE CE TRAVAIL DE DOCTORAT.....	205
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>206</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>211</b>
<b>LISTES DES FIGURES ET DES TABLEAUX.....</b>	<b>230</b>
1. FIGURES .....	231
2. TABLEAUX .....	234

# Listes des abréviations

<b>2D</b> : deux dimensions	<b>FC</b> : fréquence cardiaque
<b>ATP</b> : adénosine triphosphate	<b>FE</b> : fraction d'éjection
<b>AD</b> : atrium droit	<b>FR</b> : fraction de raccourcissement
<b>AG</b> : atrium gauche	<b>IRM</b> : imagerie par résonance magnétique
<b>bpm</b> : battement par minute	<b>ITV</b> : intégrale temps vitesse
<b>Ca<sup>2+</sup></b> : ion calcium	<b>KCl</b> : chlorure de potassium
<b>CaCl<sub>2</sub></b> : chlorure de calcium	<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b> : dihydrogénophosphate de potassium
<b>CHU</b> : centre hospitalier universitaire	<b>MDA</b> : malondialdéhyde
<b>CIV</b> : contraction isovolumétrique	<b>MgSO<sub>4</sub></b> : sulfate de magnésium
<b>cTnI</b> : troponine cardiaque I	<b>NaCl</b> : chlorure de sodium
<b>CO</b> : monoxyde de carbone	<b>NADPH oxydase</b> ou <b>Nox</b> : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate-oxydase
<b>CO<sub>2</sub></b> : dioxyde de carbone	<b>NaHCO<sub>3</sub></b> : hydrogénocarbonate de sodium
<b>dP/dt<sub>max</sub></b> : vitesse maximale de développement de la pression ventriculaire gauche	<b>O<sub>2</sub></b> : oxygène
<b>dP/dt<sub>min</sub></b> : vitesse maximale de diminution de la pression ventriculaire gauche	<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b> : anion superoxyde
<b>DTD</b> : diamètre télédiastolique	<b>Pdev</b> : pression développée par le VG
<b>DTI</b> : Doppler tissulaire ou « tissue imaging »	<b>Qc</b> : débit cardiaque
<b>DTS</b> : diamètre télésystolique	<b>RIV</b> : relaxation isovolumétrique
<b>EICF</b> : « exercise induced cardiac fatigue »	<b>RyR-2</b> : récepteur à ryanodine cardiaque
<b>EPP</b> : exercice physique prolongé	<b>SERCA-2a</b> : sarco / endoplasmique réticulum Ca <sup>2+</sup> -ATPase
<b>ERO</b> : espèces dérivées de l'oxygène	<b>STE</b> : speckle tracking echocardiography
<b>FAC</b> : fraction de changement d'aire	<b>τ</b> : constante de temps Tau

**TM** : temps-mouvement

**TRIV** : temps de relaxation isovolumétrique

**UTMB<sup>®</sup>** : The North Face<sup>®</sup> Ultra-Trail du  
Mont-Blanc<sup>®</sup>

**VD** : ventricule droit

**VES** : volume d'éjection systolique

**VG** : ventricule gauche

**VMA** : vitesse maximale aérobie

**VO<sub>2</sub>** : consommation en oxygène

**VO<sub>2max</sub>** : consommation maximale d'oxygène

**VTD** : volume télédiastolique

**VTS** : volume télésystolique

# **Introduction**

心

L' inactivité physique est un facteur de risque de pathologies chroniques comme les maladies cardiovasculaires, l'obésité et le diabète. On estime aujourd'hui que l'inactivité physique est la cause première d'environ 27 % des diabètes et 30 % des cardiopathies ischémiques (OMS, Copenhague, 2 février 2011). Ce constat met en exergue le facteur de risque sanitaire important de l'inactivité physique.

La pratique d'une activité physique régulière est considérée aujourd'hui comme un moyen incontestable de prévention des maladies cardiovasculaires (Warburton *et al.*, 2006). En effet, l'activité physique régulière modérée diminue le risque de décès associé aux pathologies cardiovasculaires (Blair *et al.*, 1996). Elle participe notamment à l'amélioration du profil lipidique (baisse du LDL-cholestérol et augmentation du HDL-cholestérol), à la diminution de la glycémie, de la pression artérielle systolique, de la fréquence cardiaque (FC) de repos et à l'augmentation de la perfusion coronaire et du débit cardiaque (Qc) afin d'apporter l'oxygène (O<sub>2</sub>) et les nutriments nécessaires aux muscles en activité. Par ailleurs, l'activité physique régulière améliore l'efficacité du système cardiovasculaire. Au plan cardiaque, elle engendre des modifications morphologiques et fonctionnelles du myocarde qui vont participer à l'augmentation du débit cardiaque maximal, à l'augmentation du transport de l'O<sub>2</sub> et de la perfusion musculaire permettant une augmentation de la capacité aérobie de l'organisme. Ainsi, ces adaptations permettent l'ajustement du système cardiovasculaire à l'effort pour répondre de manière optimale aux besoins de l'organisme.

Alors que l'exercice chronique est bénéfique pour la santé cardiovasculaire, l'exercice physique prolongé (EPP), tel que le marathon ou encore le triathlon de longue durée, engendre chez certains coureurs une augmentation de la libération de marqueurs de dommages myocardiques dans le plasma associée à des dysfonctions cardiaques transitoires (Neilan *et al.*, 2006a). Depuis le début des années 1990, de nombreux travaux se sont

intéressés à l'évaluation de la fonction cardiaque chez le sujet sain après un EPP. Dans ces études, l'échographie cardiaque constitue depuis une vingtaine d'année, une méthode incontournable dans l'évaluation des fonctions ventriculaires droite et gauche chez le sujet sain. Cependant, les études menées sur les effets d'un EPP sur la fonction cardiaque restent très descriptives (Oxborough *et al.*, 2010) et les mécanismes physiologiques et/ou physiopathologiques responsables des adaptations de la fonction cardiaque demeurent partiellement explorés. Aujourd'hui, les avancées technologiques en échocardiographie nous permettent de bénéficier de méthodes d'analyses très fines des fonctions ventriculaires droite et gauche. Ainsi le Doppler tissulaire ou « Doppler Tissue Imaging » (DTI) ou plus récemment la technique de « poursuite des signatures acoustiques » (*i.e.* « Speckle Tracking Echocardiography » - STE) constituent de nouveaux outils échocardiographiques permettant d'aller plus loin dans l'évaluation de la fonction cardiaque. Ces nouveaux outils nous permettent d'évaluer la mécanique cardiaque en terme de déformation et de vitesse de déformation et ainsi d'appréhender de manière régionale la fonction myocardique en terme de contractilité et de relaxation.

Malgré l'amélioration de ces techniques d'analyse, l'approche intégrée des études cliniques utilisant l'échocardiographie ne permet pas d'explorer les mécanismes physiologiques sous-jacents à la fatigue cardiaque. Ainsi, l'exploration de ces mécanismes nécessite l'emploi de modèles cellulaires et donc le recours à l'animal. À ce jour quelques études fondamentales ont évalué la fonction cardiaque post-EPP mais n'ont pas proposé d'explications concernant la baisse de fonction lorsque celle-ci était observée (Maher *et al.*, 1972; Grimditch *et al.*, 1981; Seward *et al.*, 1995; Marr *et al.*, 1999; Venditti *et al.*, 2001; Wonders *et al.*, 2007). Des études ont suggéré une implication de la voie  $\beta$ -adrénergique (Friedman *et al.*, 1987; Hammond *et al.*, 1987) mais toutefois, d'autres pistes doivent être

explorées comme celle du stress oxydant (Venditti *et al.*, 2001; Wonders *et al.*, 2007).

**Dans ce contexte, l'objectif de ce travail de doctorat est d'appréhender les mécanismes sous-jacents de la fatigue cardiaque induite par un EPP grâce une approche translationnelle allant de l'exploration de la mécanique ventriculaire gauche après des EPP de durée modérée (étude n°1) et de très longue durée (étude n°2) chez l'Homme, jusqu'à l'étude des mécanismes intracellulaires et moléculaires en se centrant plus spécifiquement sur l'implication de la voie  $\beta$ -adrénergique et du stress oxydant (étude n°3).**



# **Revue de la littérature**

心

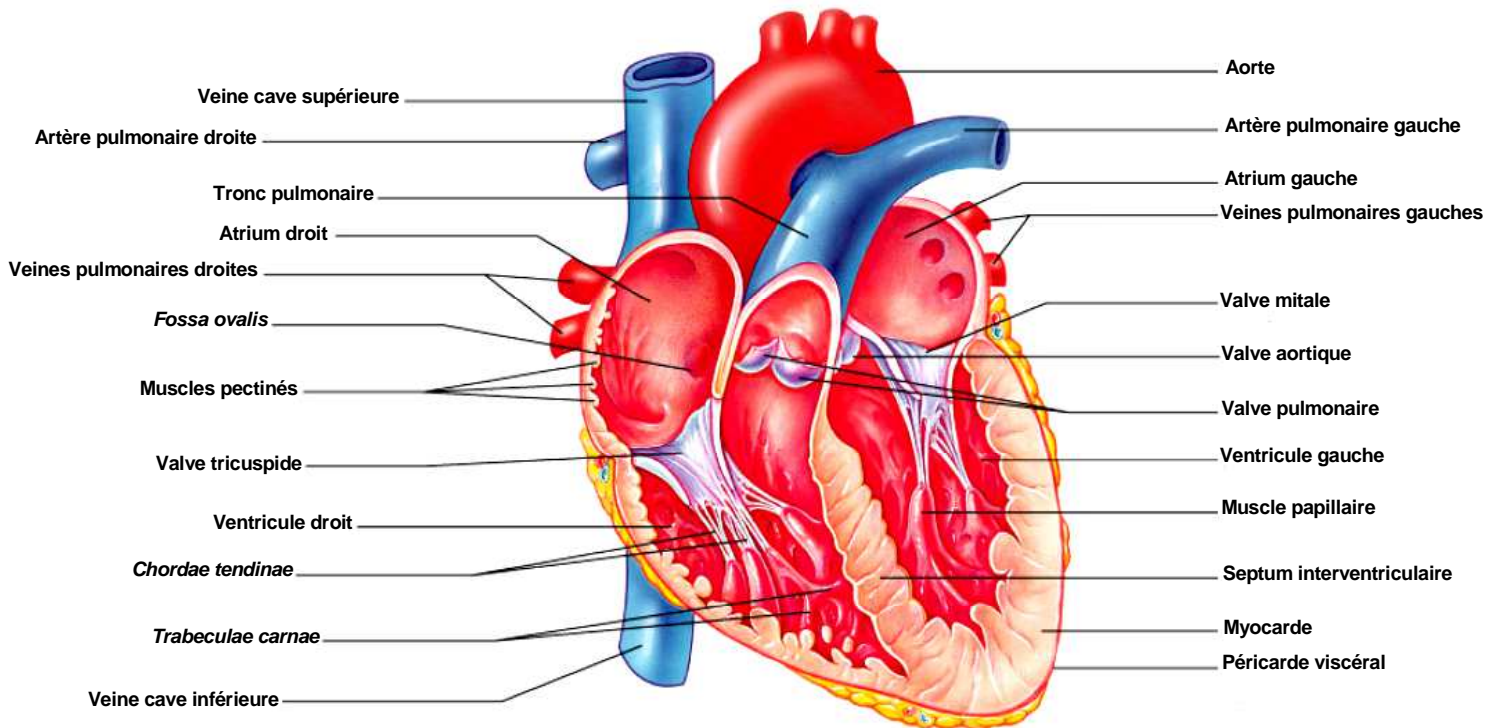
L'originalité de ce travail de thèse repose sur une approche translationnelle allant de l'observationnel clinique jusqu'aux aspects cellulaires et moléculaires afin de mieux appréhender les déterminants de la fatigue cardiaque caractérisée par des dysfonctions systolique et diastolique transitoires. Ainsi, dans la première partie de la revue de la littérature, après avoir posé les bases du fonctionnement cardiaque, nous caractériserons la fatigue cardiaque après différents types d'EPP en précisant les effets de la durée d'exercice sur le fonctionnement cardiaque chez l'adulte sain mesuré par échocardiographie Doppler transthoracique standard et tissulaire. Dans la deuxième partie nous nous intéresserons à l'évaluation de la mécanique ventriculaire gauche et à l'exploration des déterminants de la fatigue cardiaque selon une approche clinique basée sur l'utilisation du STE après différents types d'exercices prolongés chez l'adulte sain. Enfin, dans la troisième partie nous dresserons un bilan des études ayant utilisé un modèle animal pour évaluer les fonctions contractile et relaxante du ventricule gauche (VG) *in vivo*, *ex vivo* et *in vitro* ainsi que des études ayant investigué les différents mécanismes potentiels sous-jacents à la fatigue cardiaque dont la désensibilisation de la voie  $\beta$ -adrénergique et le stress oxydant.

**PARTIE I : caractérisation de la fatigue  
cardiaque induite par un exercice physique  
prolongé**

心

## 1. Généralités

Le cœur humain pèse entre 250 g et 300 g chez l'adulte. Il est situé dans le médiastin et est séparé en deux moitiés indépendantes droite et gauche. Chacune des moitiés comporte un atrium et un ventricule qui communique par une valve fixée sur un anneau fibreux : tricuspide à droite et mitral à gauche. Les atriums sont séparés par le septum interauriculaire et les ventricules par le septum interventriculaire (cf. *Figure 1*). Chaque jour, le cœur pompe de façon discontinue et éjecte de manière pulsatile près de 8000 litres de sang à raison de 100000 battements. Le sang pauvre en O<sub>2</sub> provenant de la circulation systémique arrive à la pompe droite au niveau de l'atrium droit (AD) et passe dans le ventricule droit (VD) d'où il est éjecté dans l'artère pulmonaire. Après avoir traversé les poumons, le sang oxygéné parvient au niveau de l'atrium gauche (AG) puis passe dans le VG d'où il est éjecté dans l'aorte. Ainsi, ces deux pompes disposées en série assurent respectivement la circulation pulmonaire et la circulation systémique. Cette fonction de pompe cardiaque est assurée par le myocarde composé de l'ensemble des cardiomyocytes présents autour des cavités ventriculaires.



**Figure 1 : Planche anatomique du cœur illustrant les quatre cavités cardiaques.**

Image adaptée du site Internet science.pppst.com.

Les cavités et les valves sont tapissées par un endothélium, l'endocarde, qui continue celui qui recouvre l'intérieur des vaisseaux sanguins. La surface externe du cœur est recouverte par une membrane à deux feuillets : l'épicarde, qui colle au myocarde et le péricarde qui remonte jusqu'à la racine des vaisseaux de la base du cœur et qui est séparé de l'épicarde par une couche liquidienne.

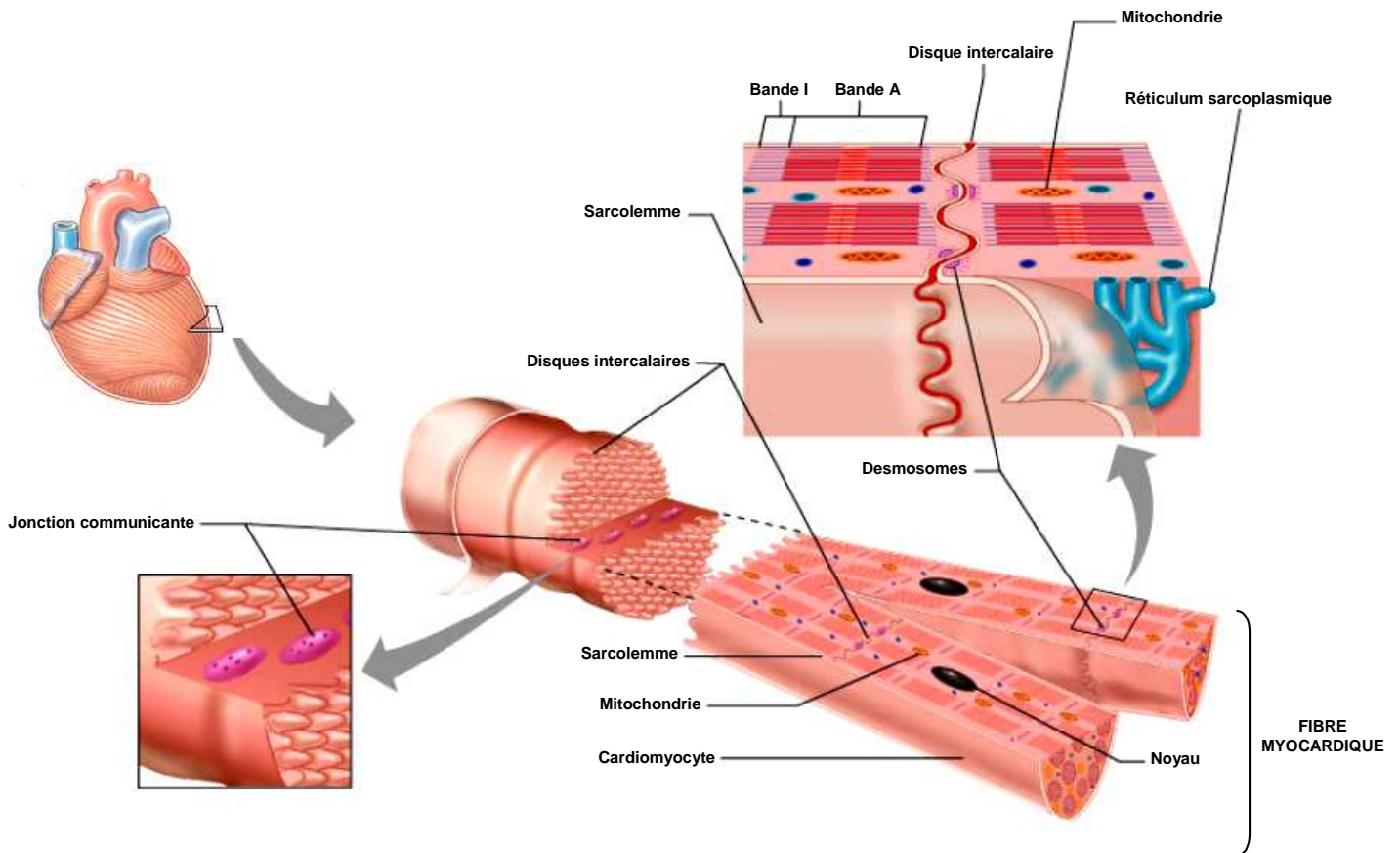
### 1.1. Morphologie cardiaque

La méthode de référence pour évaluer la morphologie cardiaque est l'imagerie par résonance magnétique (IRM) mais cette technique non vulnérante d'imagerie médicale reste

relativement onéreuse. L'évaluation de la morphologie cardiaque peut aussi s'effectuer de manière routinière par échographie cardiaque. Cette évaluation s'effectue en mode temps-mouvement (TM) à partir d'une coupe parasternale grand axe suivant les recommandations de la société américaine d'échocardiographie (Lang *et al.*, 2005). La masse du VG peut s'évaluer à partir de l'épaisseur des parois et des diamètres ventriculaires (Devereux *et al.*, 1986). Ainsi, cette masse ventriculaire gauche chez le sujet sain est comprise entre 160 g et 180 g environ (Pluim *et al.*, 2000). Les valeurs moyennes du diamètre télédiastolique (DTD) sont comprises entre 4,2 cm et 5,9 cm (Lang *et al.*, 2005) et celles du diamètre télésystolique (DTS) sont comprises entre 2,8 cm et 3,2 cm (Buch *et al.*, 1983; Fagard *et al.*, 1983; George *et al.*, 1999; D'Andrea *et al.*, 2007). Enfin, les valeurs moyennes du volume télédiastolique (VTD) et du volume télésystolique (VTS) sont respectivement comprises entre 67 mL et 155 mL et 22 mL et 58 mL (Lang *et al.*, 2005) chez le sujet sain.

## 1.2. Le myocarde

Le muscle cardiaque ou myocarde (cf. *Figure 2*) combine des propriétés du muscle squelettique et du muscle lisse. Ce tissu contractile qui forme la plus grande partie du cœur est composé de cellules cardiaques spécialisées que l'on appelle cardiomyocytes et de tissu conjonctif richement vascularisé par les artères coronaires. Le sarcoplasme des cardiomyocytes est riche en mitochondries et son réseau capillaire est dense, témoignant d'un métabolisme aérobie important. La couche myocardique est comprise entre l'épicarde (*i.e.* feuillet le plus externe du myocarde) et l'endocarde (*i.e.* feuillet le plus interne du myocarde).



**Figure 2 : Les différents éléments constitutifs du tissu myocardique.**

Image adaptée du site Internet science.pppst.com.

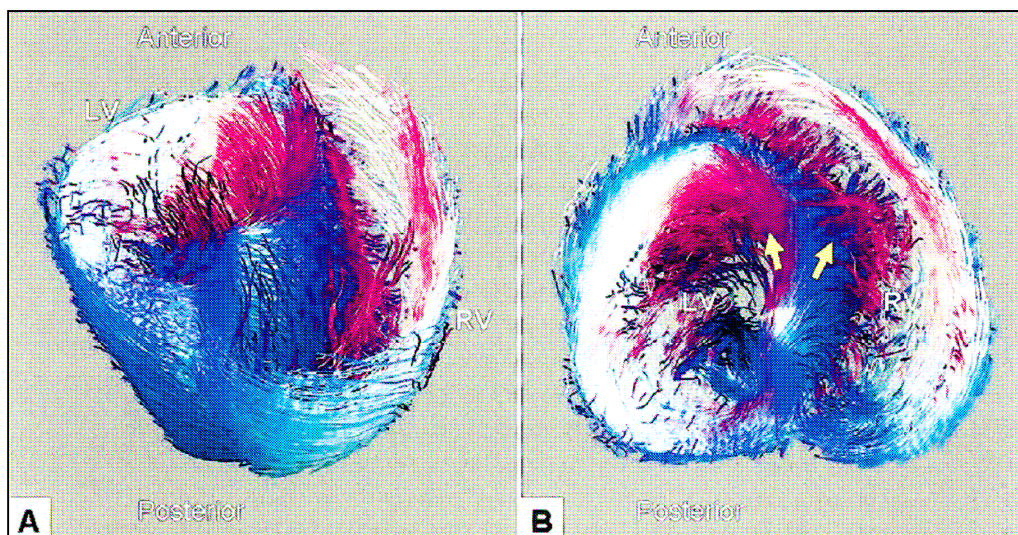
### 1.2.1. Les cardiomyocytes

Les cellules myocardiques ou cardiomyocytes sont composées de filaments épais de myosine et de filaments fins d'actine similaires à ceux du muscle squelettique. Les cellules adjacentes sont unies à leurs extrémités par des structures appelées disques intercalaires. Dans ces structures, on trouve des desmosomes qui maintiennent les cellules les unes contre les autres et sur lesquels viennent s'ancrer les myofilaments. À côté des disques intercalaires, on trouve des jonctions communicantes similaires à celles rencontrées dans de nombreux

muscles lisses qui mettent en relation le cytoplasme de deux cardiomyocytes pour permettre la transmission du signal électrique et les échanges d'ions.

### 1.3. Orientation des fibres myocardiques du VG

De nombreux travaux ont montré que les fibres myocardiques du VG ont une répartition particulière. Elles sont organisées de façon complexe, en spirale autour de la cavité ventriculaire gauche (Bogaert & Rademakers, 2001; Torrent-Guasp *et al.*, 2001; Lang *et al.*, 2005; Sengupta *et al.*, 2006b) (cf. *Figure 3*). De plus, l'orientation et la répartition des fibres entre les différentes couches de la paroi myocardique varie entre la base et l'apex pour former le vortex du ventricule (Greenbaum *et al.*, 1981; Sengupta *et al.*, 2006b).

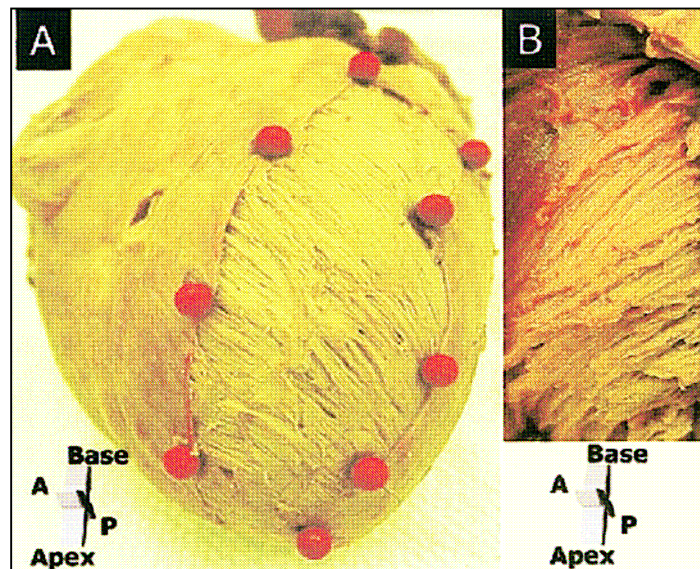


**Figure 3 : Illustration de l'organisation en spirale des fibres myocardiques.**

Les images ont été obtenues par IRM du tenseur de diffusion. Cette technique en développement permet de mesurer en chaque position spatiale la diffusion des molécules d'eau dans différentes directions (les molécules d'eau diffusent plus rapidement le long des fibres qui composent les tissus), fournissant ainsi des informations sur l'organisation tridimensionnelle des fibres du muscle cardiaque *in vivo*. On peut remarquer l'enroulement en spirale des fibres sous-épicaudales (en bleu) et sous-endocardiales (en mauve) du VG dans des sens différents vu de face (A) et vu de la base (B). LV = ventricule gauche ; RV = ventricule droit. Figure tirée de Sengupta *et al.* (2006).



En outre, la région sous-épiscardique est composée de fibres orientées de façon oblique dans le plan circonférentiel (Sengupta *et al.*, 2006b) qui s'enroulent en hélice avec un pas à gauche autour du VG. La région sous-endocardique est composée de fibres orientées de façon oblique dans le plan longitudinal (Sengupta *et al.*, 2006b) qui s'enroulent en hélice avec un pas à droite autour du VG (cf. *Figure 4*). De plus, la surface endocardique est très irrégulière par la présence des muscles papillaires (piliers) et des *trabeculae carnae*. Enfin, d'autres non-uniformités existent au niveau pariétal : la paroi postérolatérale est plus épaisse que le septum interventriculaire et les parois s'amincissent progressivement de la base à l'apex (Bogaert & Rademakers, 2001).



**Figure 4 : Orientation des fibres et structure du tissu des régions sous-épiscardiques et sous-endocardiques du VG d'un cœur de cochon adulte.**

Les fibres sous-épiscardiques s'enroulent en hélice avec un pas à gauche (A) et les fibres sous-endocardiques s'enroulent en hélice avec un pas à droite (B). On remarque également l'irrégularité de la surface de la région sous-endocardique (B) comparée à la région sous-épiscardique qui est plus uniforme (A). A = antérieur ; P = Postérieur. Figure adaptée de Sengupta *et al.*, 2006.

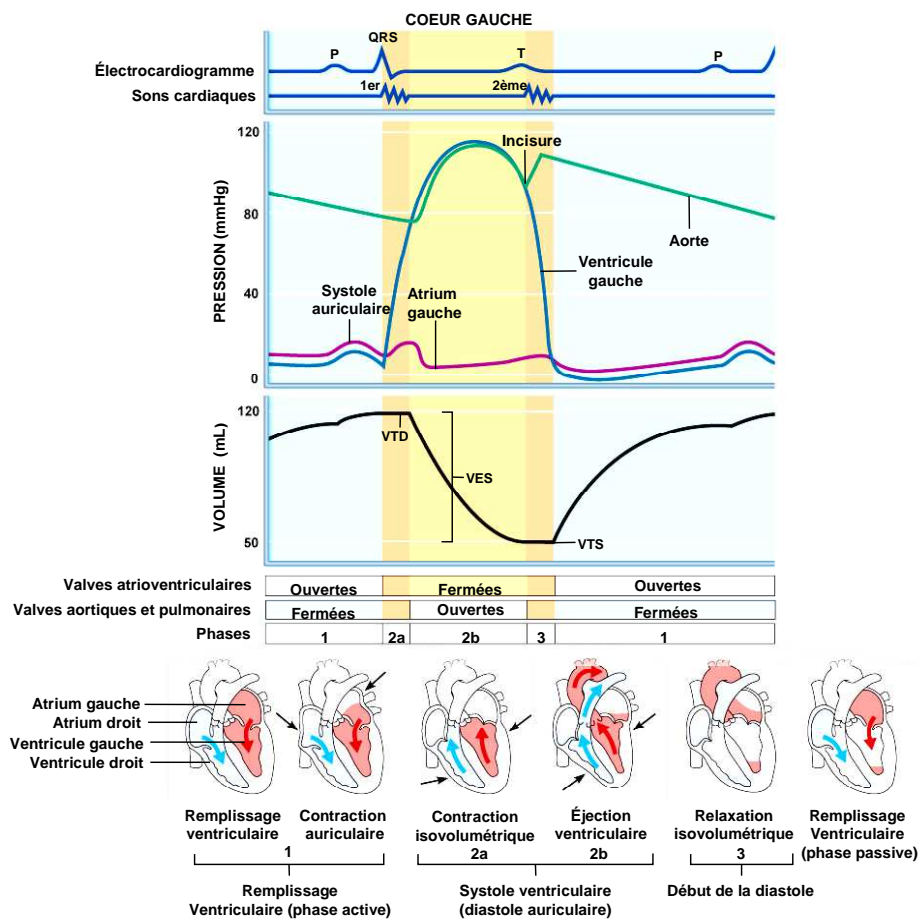
#### 1.4. Cycle cardiaque

L'activité cardiaque est cyclique. La séquence de tous les événements qui se succèdent pour constituer une révolution ou cycle cardiaque ne dure environ qu'une seconde. Cette activité assure la progression de la colonne sanguine et le maintien d'une pression sanguine adaptée aux besoins de l'organisme tout au long de la vie.

##### *1.4.1. Les différentes phases du cycle cardiaque*

Le cycle cardiaque est constitué de deux grandes phases : la systole et la diastole. La systole correspond à la phase de contraction ventriculaire durant laquelle le sang est éjecté dans l'aorte vers la circulation systémique. En protosystole, le myocarde se contracte engendrant l'augmentation des pressions intraventriculaires gauches. À cet instant, les valvules sigmoïdes aortiques restent fermées, la contraction du VG se poursuit donc sans changement de son volume : c'est la contraction isovolumétrique (CIV). Cette phase va entraîner une élévation importante des pressions intraventriculaires gauches à tel point qu'elles vont devenir supérieures aux pressions aortiques, ce qui va permettre l'ouverture des valvules sigmoïdes aortiques et donc l'éjection du sang dans la circulation systémique. Le volume de sang éjecté à chaque contraction du VG est appelé volume d'éjection systolique (VES). La diastole est la phase de relâchement du cœur, lorsque ses cavités se remplissent à nouveau par le sang provenant de la circulation pulmonaire après avoir transité par l'AG. En protodiastole, les pressions intraventriculaires diminuent grâce au relâchement du myocarde alors que les valves mitrales restent fermées. On parle alors de relaxation isovolumétrique (RIV). Après cette phase, les pressions intraventriculaires gauches deviennent inférieures aux

pressions intra-auriculaires gauches ce qui entraîne l'ouverture des valves mitrales permettant l'entrée du sang dans la cavité ventriculaire. Le remplissage ventriculaire gauche se déroule en plusieurs phases. Une phase de remplissage passif (« Early filling », onde E en échographie Doppler) durant laquelle le sang entre dans le VG uniquement grâce à la différence de pression entre l'AG et le VG et une phase de remplissage actif (« Atrial filling », onde A en échographie Doppler) liée à la contraction de l'AG (cf. Figure 5).



**Figure 5 : Les différentes phases du cycle cardiaque au cours d'une révolution.**

De haut en bas, les tracés décrivent respectivement le profil de l'électrocardiogramme, l'évolution des pressions dans l'AG, le VG et l'aorte et l'évolution du volume du VG au cours d'une révolution cardiaque. Les schémas dans le bas de la figure représentent les directions des flux sanguins (flèches bleues et rouges) pauvre en O<sub>2</sub> (bleu) et riche en O<sub>2</sub> (rouge) intracardiaques ainsi que les différents éléments en contraction (flèches noires) au cours du cycle. VES = volume d'éjection systolique ; VTD = volume télédiastolique ; VTS = volume télésystolique.

### 1.5. Tissu nodal et automatisme cardiaque

La succession des événements des pompes cardiaques droite et gauche sont assurés par les cellules nodales qui produisent spontanément et à intervalles réguliers un signal électrique qui stimule les cellules voisines. L'ensemble de ces cellules constitue le tissu nodal et comprend le nœud sinusal situé au niveau de la jonction de la veine cave supérieure avec de l'AD et le nœud atrio-ventriculaire, dans la partie supérieure de la cloison interventriculaire. Ce tissu se prolonge par le faisceau de His qui se divise en deux branches, droite au niveau du VD et gauche au niveau du VG, dans lequel elles se ramifient en un réseau sous-endocardique appelé réseau de Purkinje. Le processus normal de stimulation du cœur naît dans le nœud sinusal ou « pacemaker » (70 à 80 battements par minute (bpm)), puis la stimulation électrique atteint le nœud atrio-ventriculaire (40 à 60 bpm). La stimulation se propage de la base du cœur au niveau des atriums qui se contractent en bloc, puis est relayée avec un court temps de latence par une onde de dépolarisation qui atteint l'ensemble des deux ventricules au niveau de l'apex (ou « pointe » du cœur). La contraction des ventricules se produit quelques fractions de seconde après celle des atriums, compte tenu du temps de propagation de l'onde de dépolarisation. La conduction électrique intra-myocardique va de l'endocarde vers l'épicarde (Sengupta *et al.*, 2006a). Une fois la dépolarisation terminée, la repolarisation commence au niveau de la base pour se terminer au niveau de l'apex dans les régions sous-épicaudiques. Ainsi les régions sous-endocardiques ont un temps de dépolarisation plus important que les régions sous-épicaudiques (Sengupta *et al.*, 2006a).

## 2. Évaluations de la fonction cardiaque par échocardiographie

### 2.1. Fonction systolique

La systole est dérivée du mot grec *συστολή* qui signifie contraction. La fonction systolique correspond à l'ensemble des mécanismes permettant la vidange du VG. Elle dépend de nombreux facteurs tels que la FC, la capacité du muscle cardiaque à se contracter (*i.e.* la contractilité), les conditions de charges cardiaques (*i.e.* précharge : charge nécessaire pour déterminer la longueur initiale à laquelle le muscle cardiaque va se contracter correspondant *in vivo* au VTD et postcharge : charge que le muscle cardiaque va finalement déplacer correspondant *in vivo* à l'impédance de l'aorte) ou encore la loi de Franck-Starling qui stipule que la force de contraction du muscle cardiaque lors de la systole est proportionnelle à son étirement en télédiastole.

L'échocardiographie Doppler transthoracique est la technique non vulnérante la plus répandue en clinique permettant d'apprécier la fonction systolique. Le débit cardiaque (Qc), peut être quantifié à partir de l'enregistrement du flux d'éjection aortique en Doppler pulsé, du diamètre de la chambre de chasse ventriculaire et de la fréquence cardiaque :  $Qc \text{ (L}\cdot\text{min}^{-1}) = \text{ITV sous-aortique} \times \text{diamètre de la chambre de chasse du VG} \times \text{FC}$  ou l'ITV est l'Intégrale Temps-Vitesse. La fonction systolique globale s'apprécie principalement par le calcul de la fraction d'éjection (FE) par quantification des VTD et VTS selon la méthode de sommation des disques de Simpson en biplan (incidences apicales 4 et 2 cavités) :  $FE (\%) = (\text{VTD} - \text{VTS}) / \text{VTD} * 100$  (Schiller *et al.*, 1989). La valeur normale se situe à  $70 \% \pm 10 \%$  (Wong *et al.*, 1995). La fonction systolique globale peut également être évaluée à partir de la fraction de raccourcissement (FR) calculée à partir des DTD et DTS en mode TM (coupe parasternale).

La valeur normale est d'environ de 42 %  $\pm$  8 % (Hurlburt *et al.*, 2007).

Cependant, tous ces indices globaux basés sur les dimensions ventriculaires gauches ne permettent pas l'évaluation de la contractilité myocardique du VG du fait de leur dépendance à une multitude de facteurs comme la FC et les conditions de charge cardiaque. La méthode de référence reste l'enregistrement des pressions et des volumes intraventriculaires à partir d'un cathéter spécifique introduit dans le cœur par voie artérielle. Ces enregistrements permettent l'analyse de la boucle pression-volume donnant des indices globalement indépendants des conditions de charge (Burkhoff *et al.*, 2005) nous renseignant sur la fonction contractile du VG comme la vitesse maximale de développement de la pression ventriculaire gauche (*i.e.*  $dP/dt_{\max}$  en mmHg.s<sup>-1</sup>). Néanmoins, cette méthode est invasive et difficilement applicable chez des sujets sains.

Récemment, le DTI a permis d'aller un peu plus loin dans l'évaluation de la fonction systolique. Cette méthode nous permet d'évaluer les vitesses de déplacement dans le plan longitudinal de l'anneau mitral lors du cycle cardiaque (cf. *Figure 6*). Le pic de vitesse lors de la phase systolique (pic de l'onde S') a été utilisé comme indicateur de dysfonction systolique et de mortalité quand  $S' < 3 \text{ cm.s}^{-1}$  (Yu *et al.*, 2007). Il a également été montré que la dérivée en fonction du temps des vitesses de déplacement durant la phase de CIV correspondant à l'accélération représentait le meilleur indice de contractilité évalué par DTI (Ruan & Nagueh, 2006). Enfin, une étude récente menée chez le chien a montré une forte corrélation entre le pic de l'onde S' mesurée par DTI au niveau de l'anneau mitral dans le plan longitudinal et  $dP/dt_{\max}$  (= indice de contractilité) ( $R^2 = 0,67$ ,  $P < 0,001$ ) (Seo *et al.*, 2010). Cependant, tous ces indices évalués par DTI restent fortement influencés par les mouvements de translation du cœur et dépendants de l'angle de tir Doppler.

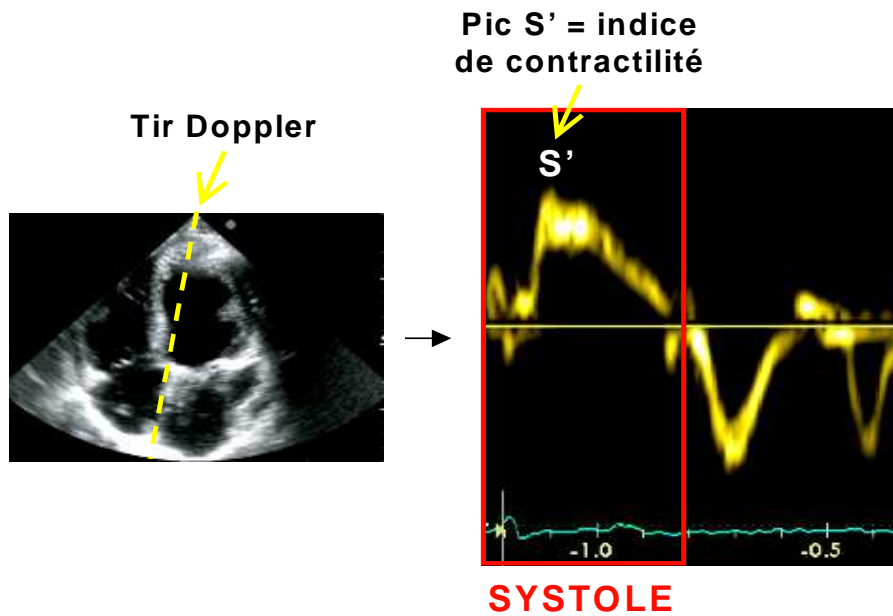


Figure 6 : Évaluation de l'onde S' par DTI au niveau de la paroi septale du VG.

Études	VES (mL)	Qc (mL.min <sup>-1</sup> )	FE (%)	FR (%)	Onde S' (cm.s <sup>-1</sup> )
Di Bello et al., 1996 (n = 10)	67,8 ± 10,3	4,9 ± 1,7	62,6 ± 6,2		
Pluim et al., 2000			67,2 (64,5-69,8) (n = 296)	34,4 (33,5-35,2) (n = 491)	
Claessens et al., 2001 (n = 22)		5,9 ± 1,3	69,8 ± 7,3	40,0 ± 6,2	
Rivas-Gotz et al., 2003 (n=55)	69 ± 2	5,4 ± 0,2	65 (58-67)		
Nottin et al., 2004 (n = 15)	44 ± 9	3,1 ± 0,7	63 ± 5		Septal 9,8 ± 0,9
Notomi et al., 2006 (n = 20)	80 ± 22		63 ± 6		Grd axe 6,8 ± 0,9
Hurlburt et al., 2007 (n = 60)			72,8 ± 8,8	Endo (42,4 ± 7,7)	

Tableau 1 : Exemples de valeurs des paramètres de la fonction systolique mesurés par échocardiographie Doppler standard et tissulaire.

VES = volume d'éjection systolique, Qc = débit cardiaque, FE = fraction d'éjection, FR = fraction de raccourcissement, G axe = onde S' mesurée sur le grand axe du ventricule gauche, Septal = onde S' mesurée au niveau de la paroi septale du VG. Références bibliographiques du Tableau 1 : (Di Bello *et al.*, 1996; Pluim *et al.*, 2000; Claessens *et al.*, 2001; Rivas-Gotz *et al.*, 2003; Nottin *et al.*, 2004; Notomi *et al.*, 2006; Hurlburt *et al.*, 2007).

## 2.2. Fonction diastolique

La diastole est dérivée du mot grec διαστολή qui signifie expansion. La fonction diastolique se décompose en quatre phases (dans l'ordre chronologique) : la RIV, le remplissage passif, la période de *diastasis* (*i.e.* entre la fin de la phase de remplissage passif et la systole auriculaire) et le remplissage actif. La fonction diastolique permet le remplissage optimal du VG grâce à sa fonction de remplissage passif et actif avant la période d'éjection suivante. Le remplissage cardiaque est influencé par de nombreux facteurs tels que les conditions de charge cardiaque (*i.e.* précharge et postcharge) et la quantité de calcium repompée au niveau du réticulum sarcoplasmique des cardiomyocytes (Brutsaert & Sys, 1989) qui va influencer les propriétés de relaxation des protéines contractiles (*i.e.* actine et myosine). La fonction diastolique représente un point clé de la performance cardiaque car d'une part, *via* la loi de Franck-Starling, le VES est largement conditionné par le VTD et d'autre part, lorsque la FC augmente, le temps de diastole dans le cycle cardiaque se trouve considérablement diminué (Little *et al.*, 2000) nécessitant la diminution de la durée de *diastasis* et l'augmentation de la vitesse du flux de remplissage passif (Rassi *et al.*, 1988) pour maintenir le VES.

L'évaluation de la fonction diastolique en clinique est réalisée de manière routinière par échocardiographie Doppler. Ainsi, le profil de remplissage du VG peut être estimé à partir de l'évaluation du VTD soit par méthode de référence biplan de Simpson soit à partir de la formule de Teicholtz (1967) :  $V \text{ (mL)} = 7D^3 / (2,4 + D)$ . Le pattern de remplissage du VG peut être également évalué par Doppler pulsé à partir de la vitesse du flux sanguin mitral mesurée en incidence apicale 4-cavités. Le pic de vitesse de l'onde E est classiquement utilisé en clinique comme indice global du remplissage cardiaque. Le pic de vitesse de l'onde



A permet le calcul du rapport E/A qui évalue la part du remplissage actif et passif pendant la diastole. Enfin, la fonction diastolique peut être estimée par le flux veineux pulmonaire évalué par Doppler pulsé en incidence apicale 4-cavités par les indices suivants : onde D (pic de vitesse diastolique antérograde) et l'onde Ar (pic de vitesse du reflux atrial en fin de diastole). Ce flux veineux pulmonaire offre un indice supplémentaire de relaxation atriale. Les paramètres décrits jusqu'à maintenant permettent une évaluation globale de la fonction diastolique, mais de part leur dépendance à la précharge cardiaque, ne nous renseignent pas sur les propriétés intrinsèques de relaxation du myocarde.

L'indice de référence dans l'étude de la relaxation est la constante de temps Tau ( $\tau$ ). Elle caractérise la phase de décroissance exponentielle des pressions du VG à partir de la vitesse maximale de diminution de la pression ventriculaire gauche valeur (*i.e.*  $dP/dt_{\min}$  = indice de relaxation en  $\text{mmHg}\cdot\text{s}^{-1}$ ) (Weiss *et al.*, 1976). D'un point de vue clinique,  $\tau$  est égale au temps mis pour obtenir 63% de la baisse maximale des pressions dans le VG. Toutefois,  $\tau$  ne peut être calculée que de façon vulnérante à partir de l'enregistrement des pressions intraventriculaires gauches. La relaxation peut être estimée grâce à l'échocardiographie Doppler standard par le temps de décélération de l'onde E et le temps de relaxation isovolumétrique (TRIV) qui correspond au temps entre la fin de la systole et le début de l'onde E (Nagueh *et al.*, 2009). L'évaluation de la relaxation myocardique chez l'Homme va notamment pouvoir être réalisée à partir d'indices ayant été corrélés à  $\tau$ .

L'avènement du DTI il y a une vingtaine d'année a permis aux cliniciens d'aller un peu plus loin dans l'évaluation des propriétés de relaxation du muscle cardiaque. Le DTI est classiquement réalisé en incidence apicale 4 cavités pour acquérir les vitesses de déplacement de l'anneau mitral. Ainsi, le pic de vitesse de l'onde E' (vitesse de déplacement de l'anneau

mitral pendant le remplissage passif) (cf. *Figure 7*) est enregistré au niveau des parois septale et latérale et utilisé comme indice de relaxation (Nagueh *et al.*, 1997).

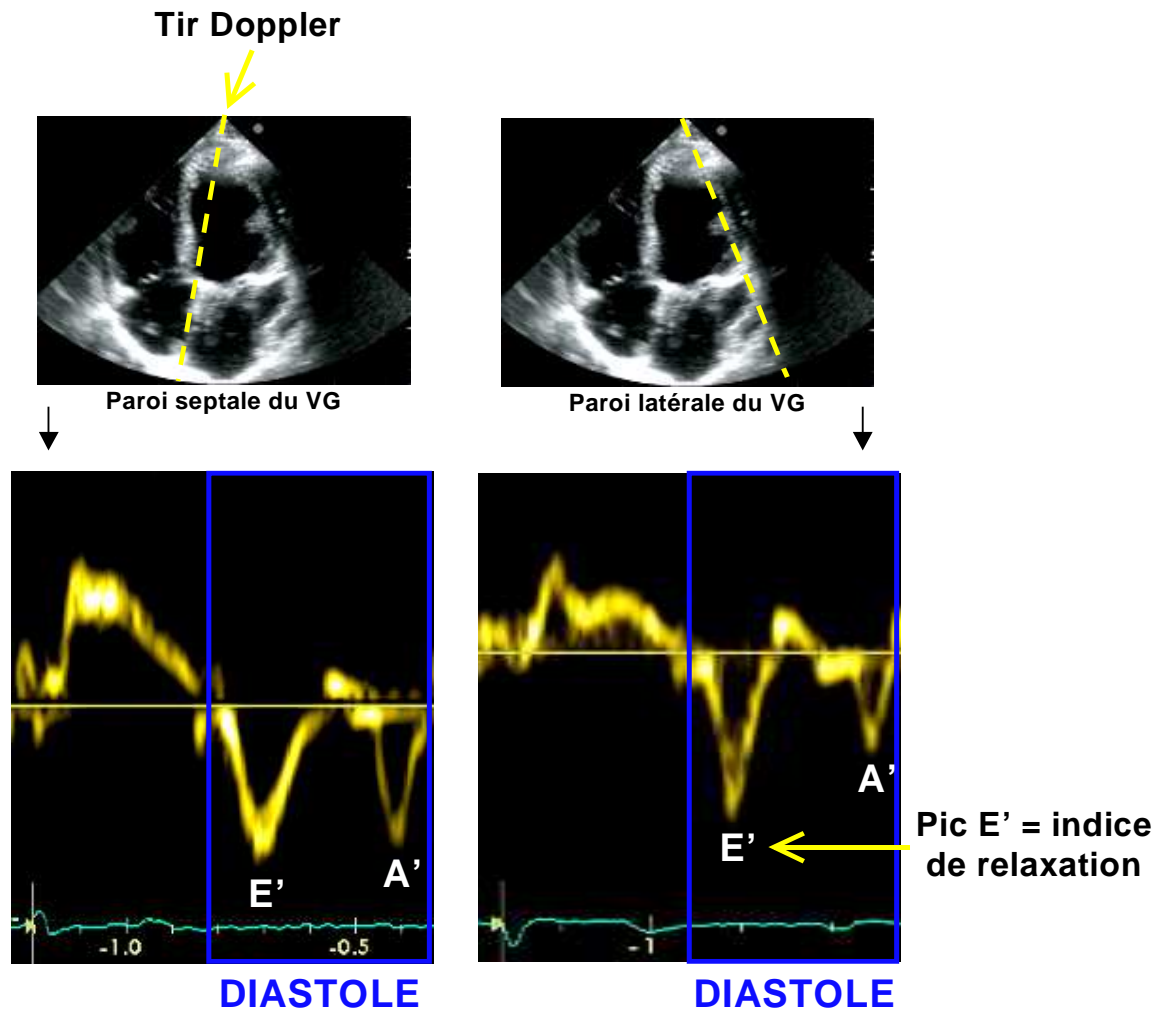


Figure 7 : Évaluations de l'onde E' et de l'onde A' par DTI au niveau des parois septale et latérale du VG.

De plus le rapport  $E/E'$  est corrélé avec les pressions de remplissage du VG (Kasner *et al.*, 2007). Enfin, il est à noter que la vitesse de propagation du flux ( $V_p$ ) mesurée grâce à un mode TM couleur permet également d'estimer les pressions de remplissage du VG *via* le

rapport E/Vp (Nagueh *et al.*, 2009). Cependant, l'onde E' reste partiellement liée à la précharge chez le sujet sain (Firstenberg *et al.*, 2000) ce qui influence l'estimation des pressions de remplissage évaluées par le ratio E/E' (Nagueh *et al.*, 2009). Par ailleurs, les paramètres de vitesse et de déplacement du myocarde cités ci-dessus ont d'importantes limites car ils sont influencés par les mouvements du cœur et leur mesure est fortement dépendante de l'angle de tir Doppler entre le faisceau ultrasonore et l'échantillon à étudier.

Paramètres	21-40 ans
TRIV (ms)	67 ± 8
E/A	1,53 ± 0,40
Temps décélération onde E (ms)	166 ± 14
Durée onde A (ms)	127 ± 13
Onde Ar (cm.s <sup>-1</sup> )	21 ± 8
Durée onde Ar (ms)	96 ± 33
Onde E' septale (cm.s <sup>-1</sup> )	15,5 ± 2,7
E'/A' septal	1,6 ± 0,5
Onde E' latérale (cm.s <sup>-1</sup> )	19,8 ± 2,9
E'/A' latéral	1,9 ± 0,6

**Tableau 2 : Valeurs moyennes des paramètres de la fonction diastolique mesurés par échocardiographie Doppler standard et tissulaire.**

La tranche d'âge sélectionnée correspond aux valeurs de référence des paramètres échocardiographiques et DTI des populations utilisées dans les différentes études menées chez l'Homme au cours de ce travail de doctorat. TRIV = Temps de relaxation isovolumique. Tableau adapté de Nagueh *et al* (2009).

### 3. Dysfonctions ventriculaires et exercice physique prolongé

#### 3.1. Préambule

Alors que le fonctionnement de la pompe cardiaque est amélioré par l'exercice régulier en aérobie (Warburton *et al.*, 2006), il a été montré pour la première fois en 1964, que la fonction du VG était diminuée après un EPP (Saltin & Stenberg, 1964). Une vingtaine d'année plus tard un travail a démontré une altération du fonctionnement cardiaque d'athlètes ayant réalisés un EPP et employé pour la première fois le concept de fatigue cardiaque induite par l'exercice ou « EICF (*i.e.* Exercise-Induced Cardiac Fatigue)» (Douglas *et al.*, 1987). Ce phénomène se définit comme une diminution transitoire des fonctions ventriculaires systolique et diastolique (Douglas *et al.*, 1987).

Les sports d'endurance « extrêmes » connaissent un véritable engouement depuis une vingtaine d'années. Passion de l'effort physique, goût pour la vie en pleine nature, envie de connaître ses limites, les motivations sont nombreuses pour participer à ces épreuves hors du commun. Parmi ces celles-ci figurent les courses de durée modérée comme le semi-marathon (*i.e.* entre 1h-2h d'effort) et le marathon avec ses 42,195 km (*i.e.* 2h-4h) ; les courses de longue durée comme le semi-triathlon distance « Ironman » (*i.e.* 5h-8h) et le triathlon distance « Ironman » avec ses 3,8 km de nage, 180 km de vélo et 42,195 km de course à pied (*i.e.* 9h-16h) et enfin les courses de très longue durée comme les ultra-marathons ou les ultra-trails avec des épreuves dépassant les 24h de course. L'effet de ces EPP sur la fonction cardiovasculaire des participants a fait l'objet de nombreuses recherches scientifiques. La méthodologie générale utilisée dans ces différents travaux comprend l'évaluation des paramètres échocardiographiques de la fonction cardiaque avant et après l'EPP dans des

conditions de repos.

### 3.2. Effet de la durée de l'exercice physique sur la fonction ventriculaire gauche

#### 3.2.1. Exercice de durée modérée et fonction ventriculaire gauche

Après un EPP de durée modérée, la majorité des études ont rapporté une diminution de la fonction diastolique du VG (cf. *Tableau 3*). De manière intéressante, la méta-analyse de Middleton *et al.* (2006) réalisée à partir d'une trentaine d'études, a mis en évidence que la diminution de la fonction diastolique était effective à partir de 1 heure d'effort (Middleton *et al.*, 2006). Cette baisse est caractérisée par une diminution du rapport E/A liée à une augmentation de l'onde A (effet de la tachycardie post-EPP) et également à une diminution de l'onde E. Sur la base des études ayant utilisé le DTI post-EPP de durée modérée, on peut se rendre compte d'une tendance à la baisse de l'onde E'. Par exemple, George *et al.* (2005) ont démontré une baisse de E' et ont conclu que la baisse de fonction diastolique évaluée par DTI était en partie liée à une baisse de la relaxation du VG plutôt qu'à une baisse des pressions intraventriculaires gauches (George *et al.*, 2005). À noter, aucune baisse des pressions de remplissage évaluées par le ratio E/E' n'a été observée dans la littérature après ce type d'exercice (Banks *et al.*, 2010; George *et al.*, 2005; Neilan *et al.*, 2006b; Oxborough *et al.*, 2006; Dawson *et al.*, 2008).

Les résultats sont plus hétérogènes par rapport à l'évaluation de la fonction systolique après un EPP de durée modérée. En effet, si l'effort est d'une durée comprise entre 60 minutes et 95 minutes, on s'aperçoit que la majorité des études ont rapporté une baisse de la fonction systolique du VG caractérisée par une diminution des fractions d'éjection et de

raccourcissement post-course. En revanche, entre 90 minutes et 240 minutes de course, soit pour des efforts de type marathon, la majorité des études n'a pas rapporté d'altération de la fonction systolique avec des FE inchangées post-course. Toutefois, quelques études (Banks *et al.*, 2010; Seals *et al.*, 1988; Hart *et al.*, 2006) rapportent des baisses de FE et la méta-analyse de Middleton *et al.* (2006) met en évidence une baisse modérée de la FE après un EPP quels que soient la durée et le niveau d'entraînement (*i.e.* baisse d'environ 2 % par rapport à la valeur pré-exercice). Il est à noter que seules deux études à ce jour ont évalué la contractilité du VG après un EPP de durée modérée. La première n'a pas rapporté de différence (Oxborough *et al.*, 2006) alors que la deuxième a démontré une augmentation de la contractilité du VG post-course (Dawson *et al.*, 2007). Ces résultats contradictoires peuvent être expliqués par le fait que les indices utilisés ne sont pas complètement indépendants des conditions de charge. De plus, l'augmentation de la concentration plasmatique en catécholamines (Stuempfle *et al.*, 2010) et l'augmentation de la FC post-effort modulent les propriétés contractiles du VG pouvant améliorer la fonction systolique.

**Bilan : Un EPP de durée modérée entraîne une diminution de la fonction diastolique du VG associée à une baisse de relaxation ventriculaire. Les résultats concernant la fonction systolique sont contradictoires et montrent que les altérations dépendent de la durée puisqu'elle semble diminuée pour des efforts compris entre 60 minutes et 95 minutes mais normale pour des efforts de type marathon (entre 2 heures et 4 heures), sans modification de la contractilité ventriculaire.**

Études évaluant la fonction ventriculaire gauche par échocardiographie Doppler standard et tissulaire lors d'un exercice physique de durée modérée (1h à 4h)

Auteurs	Année	Type d'exercice	Diastole			Systole		
			↓	-	↑	↓	-	↑
Hanssen	2011	marathon	E/A,E'	E,E/E'	A,A'		FE	
Wilson	2010	marathon	E/A					FE
Banks	2010	150 min course	E/A,E'/A'sept et lat	E,E/E'	A	FE		
Dawson	2008	marathon	E/A	E/E'			FE	
Alshaher	2007	90 min course	E/A	E',E'/A',E/E'			FE	
Dawson	2007	150 min ergocycle		E/A	E,A		FE	dP/dt <sub>max</sub>
Hart	2007	marathon	E/A,E'/A'				FE	
Hart	2006	240 min rameur	E/A	E	A	FE, P <sub>syst</sub> / VTS		
Oxborough	2006	marathon	E,E/A,E',E'/A'	E/E'	A,A'		S'	
Middleton	2006	marathon	E/A					
Neilan	2006	marathon	E,E/A,E' sept et lat	E/E'	A,A'sept et lat			
Scharhag	2006	60-180 min course	E,E/A,E',E/A'		A,A'		FE,FR	
George	2006	marathon					FE,FR, S'moy long et rad	
George	2005	marathon	E,E/A,E',E'/A',PV	E/E'	A,A'			
Whyte	2005	marathon	E,E/A,E',E'/A'		A,A'		FE	
Dawson	2005	240 min ergocycle		E,A,E/A				
George	2004	marathon	E/A				FE, P <sub>syst</sub> / VTS	
Stickland	2004	150-210 min ergocycle						FAC, P <sub>syst</sub> / ESCA
McGavock	2003	120 min ergocycle				P <sub>syst</sub> / ESCA	FAC	Ws
Goodman	2001	150 min ergocycle					FE	
Lucia	1999	marathon	E/A				FE	
Eysmann	1996	95 min ergocycle				FE		
Ketelhut	1994	60 min ergocycle				FE,FR		
Palatini	1994	60 min course				FE	P <sub>syst</sub> / VTS	
Ketelhut	1992	60 min ergocycle	E'post W			FE		
Manier	1991	marathon		E/A			FR	
Vanoverschelde	1991	20 km course				FE		
Seals	1988	160-180 min course				FR		
Perrault	1986	marathon					FE,FR	

**Tableau 3 : Effet d'un exercice de durée modérée sur la fonction ventriculaire gauche évaluée par échocardiographie Doppler standard et tissulaire.**

E = pic de vitesse du flux mitral protodiastolique, A = pic de vitesse du flux mitral télédiastolique, E/A = indice de remplissage, E' = pic de vélocité protodiastolique de déplacement de la paroi myocardique, A' = pic de vélocité télédiastolique de déplacement de la paroi myocardique, E'/A' = indice de fonction diastolique, E/E' = indice de pression de remplissage, FE = fraction d'éjection, FR = fraction de raccourcissement, P<sub>syst</sub>/VTS = pression systolique/volume téléstolique, P<sub>syst</sub>/ESCA = pression systolique/aire cavité téléstolique, FAC = fraction de changement d'aire ventriculaire, Ws = stress pariétal, E' post W = pic de vélocité de déplacement de la paroi postérieure du VG en protodiastole, dP/dt<sub>max</sub> et S' = indices de contractilité, S' moy = pic moyen de vélocité de déplacement des parois du VG en systole, PV = veine pulmonaire, sept = paroi septale, lat = paroi latérale, long = longitudinal, rad = radial.

Références bibliographiques du *Tableau 3* : (Banks *et al.*, 2010; Hanssen *et al.*, 2011; Wilson *et al.*, 2010; Perrault *et al.*, 1986; Seals *et al.*, 1988; Manier *et al.*, 1991; Vanoverschelde *et al.*, 1991; Ketelhut *et al.*, 1994; Palatini *et al.*, 1994; Eysmann *et al.*, 1996; Lucia *et al.*, 1999; Goodman *et al.*, 2001; McGavock *et al.*, 2003; George *et al.*, 2004; Stickland *et al.*, 2004; Dawson *et al.*, 2005; George *et al.*, 2005; Whyte *et al.*, 2005; George *et al.*, 2006; Hart *et al.*, 2006; Middleton *et al.*, 2006; Neilan *et al.*, 2006b; Oxborough *et al.*, 2006; Scharhag *et al.*, 2006; Alshaher *et al.*, 2007; Dawson *et al.*, 2007; Hart *et al.*, 2007; Dawson *et al.*, 2008).

### 3.2.2. Exercice de longue durée et fonction ventriculaire gauche

On remarque que la fonction diastolique du VG est, dans la grande majorité des études, diminuée après un exercice physique de longue durée de type triathlon longue distance (cf. *Tableau 4*). Après ce genre de course, une diminution du rapport E/A est observée. Cette diminution est liée d'une part au maintien ou à l'augmentation de l'onde A et également à une diminution de l'onde E. L'utilisation du DTI a mis en évidence une diminution de la relaxation du VG caractéristique d'une diminution de l'onde E' (Chan-Dewar *et al.*, 2010; Nottin *et al.*, 2009). À la différence des EPP de durée modérée, les EPP de longue durée affectent de manière importante la fonction systolique. La méta-analyse de Middleton *et al.* (2006) démontre que la baisse de fonction systolique est effective pour des durées d'effort supérieures à 6 heures. La diminution de la fonction systolique du VG est caractérisée par une baisse de FE, FR et de certains autres indices de fonction systolique (*e.g.* SBP/ESCA, FAC). De manière intéressante, deux des trois études Doppler tissulaire ont montré une diminution de l'onde S', suggérant une baisse de la contractilité du VG.

**Bilan : Un EPP de longue durée altère la fonction diastolique du VG et diminue sa relaxation. Contrairement aux efforts de type marathon, la fonction systolique est ici diminuée après la course. La contractilité ventriculaire semble aussi être affectée par un EPP de longue durée bien que ce résultat repose sur un nombre restreint d'études.**



**Études évaluant la fonction ventriculaire gauche par échocardiographie Doppler standard et tissulaire lors d'un exercice physique de longue durée (5h à 16h)**

Auteurs	Année	Type d'exercice	Diastole			Systole		
			↓	-	↑	↓	-	↑
Chan-Dewar	2010	89 km ultramarathon	E/A, E'moy, A'moy			FE, S'moy		
Nottin	2009	"Ironman"	E, E/A, E'	A, A', E/E'		FR, FR, S'		
George	2009	89 km ultramarathon	E, E/A	A		FE, FAC		
La Gerche	2008	"Ironman"		E/A, E', E/E'			FE	
Scott	2007	1/2 "Ironman"	E/A			FAC, P <sub>syst</sub> /ESCA		
Tulloh	2006	"Ironman"				FE		
Hassan	2006	"Ironman"	E, E/A	A			FE	
Welsh	2005	1/2 "Ironman"				FAC		
Shave	2004	1/2 "Ironman"	E/A			P <sub>syst</sub> / VTS		
La Gerche	2004	"Ironman"		E/A			FE	
Haykowsky	2001	1/2 "Ironman"				FAC, P <sub>syst</sub> /ESCA		
Whyte	2000	1/2 "Ironman" et "Ironman"	E, E/A		A	FE, FR (ironman)	FE, FR (1/2 ironman)	
Rifai	1999	"Ironman"				FE		
Douglas	1998	"Ironman"	DFR			FE		
Yamazaki	1990	"Ironman"				FR		
Carrio	1990	6 h course						FE
Douglas	1990	"Ironman"		E/A	E, A			
Douglas	1990	"Ironman"				FE		
Douglas	1987	"Ironman"	E/A	E	A	FR	Ws	

**Tableau 4 : Effet d'un exercice de longue durée sur la fonction ventriculaire gauche évaluée par échocardiographie Doppler standard et tissulaire.**

E = pic de vitesse du flux mitral protodiastolique, A = pic de vitesse du flux mitral télédiastolique, E/A = indice de remplissage, E' = pic de vélocité protodiastolique de déplacement de la paroi myocardique, A' = pic de vélocité télédiastolique de déplacement de la paroi myocardique, E/E' = indice de pression de remplissage, E'moy = moyenne des ondes E' des 6 segments pariétaux de la base du VG, A'moy = moyenne des ondes A' des 6 segments pariétaux de la base du VG, S' et S'moy = indices de contractilité, DFR = vitesse de remplissage diastolique, FE = fraction d'éjection, FR = fraction de raccourcissement, P<sub>syst</sub>/VTS = pression systolique/volume télédiastolique, P<sub>syst</sub>/ESCA = pression systolique/aire cavité télédiastolique, FAC = fraction de changement d'aire ventriculaire, Ws = stress pariétal. Références bibliographiques du Tableau 4 : (Chan-Dewar *et al.*, 2010; Douglas *et al.*, 1987; Carrio *et al.*, 1990; Douglas *et al.*, 1990; Yamazaki *et al.*, 1990; Douglas *et al.*, 1998; Rifai *et al.*, 1999; Whyte *et al.*, 2000; Haykowsky *et al.*, 2001; La Gerche *et al.*, 2004; Shave *et al.*, 2004; Welsh *et al.*, 2005; Hassan *et al.*, 2006; Tulloh *et al.*, 2006; Scott *et al.*, 2007; La Gerche *et al.*, 2008; George *et al.*, 2009; Nottin *et al.*, 2009).

### 3.2.3. Exercice de très longue durée et fonction ventriculaire gauche

Au regard de la littérature, là encore, on peut remarquer que la fonction diastolique du VG est altérée après un EPP de très longue durée (cf. *Tableau 5*). Les premières études menées après des courses de 24 heures au cours desquelles les athlètes devaient parcourir le plus de distance possible, ont démontré des modifications du remplissage (Niemela *et al.*, 1984; Niemela *et al.*, 1987). Plus récemment deux études ont démontré une diminution du rapport E/A après des épreuves d'ultra-endurance avec des durées comprises entre 25 heures (Scott *et al.*, 2009) et 48 heures (Shave *et al.*, 2002) de course. La fonction systolique du VG semble quant à elle être diminuée après plus de 24 heures d'exercice. En effet, les études pionnières ont démontré une diminution de la FR et les études plus récentes une diminution de la FE et de la FAC du VG. Il est à noter que l'étude de Davila-Romàn *et al.* (1997) menée après un exercice d'ultra-endurance en montagne n'a démontré aucune variation de FE et une diminution du VTS (Davila-Roman *et al.*, 1997). Ainsi pour ces auteurs la fonction systolique du VG n'est pas altérée après ce type d'exercice.

Cependant, les résultats issus de cette synthèse de la littérature des études de la fonction cardiaque réalisées après des EPP de très longue durée se basent sur un nombre très faible de données. Par ailleurs, bien que de durée assez homogène, les exercices sont très hétérogènes par rapport aux conditions environnementales dans lesquelles ils se sont déroulés.

**Bilan : Un EPP de très longue durée altère la fonction diastolique du VG. La fonction systolique semble également diminuée après la course malgré quelques résultats prouvant le contraire. Aucune information sur de possibles modifications des propriétés de contractilité et de relaxation du VG après ce type d'EPP n'est disponible à ce jour.**

Enfin, le faible nombre d'études et l'hétérogénéité des conditions environnementales ne permettent pas d'établir un constat objectif sur l'effet d'une course de très longue durée sur la fonction du VG.

Etudes évaluant la fonction ventriculaire gauche par échocardiographie Doppler standard et tissulaire lors d'un exercice physique de très longue durée (> 24h)								
Auteurs	Année	Type d'exercice	Diastole		Systole			
			↓	-	↑	↓	-	↑
Scott	2009	160 km ultramarathon	E,E/A	A		FE,FAC	$P_{syst}/VTS,$ Ws	
Shave	2002	48 h ultratrail	E/A			FE,FAC		
Dàvila-Romàn	1997	163 km ultratrail					FE	Diminution aire VG et VTS
Niemela	1987	24 h course	Allongement période remplissage passif VG			FR		
Niemela	1984	24 h course	DTD			FR, $P_{syst}/DTS,$ Ws		

**Tableau 5 : Effet d'un exercice de très longue durée sur la fonction ventriculaire gauche évaluée par échocardiographie Doppler standard et tissulaire.**

E = pic de vitesse du flux mitral protodiastolique, A = pic de vitesse du flux mitral télédiastolique, E/A = indice de remplissage, FE = fraction d'éjection, FR = fraction de raccourcissement, DTD = diamètre télédiastolique, VTS = volume télésystolique,  $P_{syst}/VTS$  = pression systolique/volume télésystolique,  $P_{syst}/DTS$  = pression systolique/diamètre télésystolique, FAC = fraction de changement d'aire ventriculaire, Ws = stress pariétal. Références bibliographiques du Tableau 5 : (Niemela *et al.*, 1984; Niemela *et al.*, 1987; Davila-Roman *et al.*, 1997; Shave *et al.*, 2002; Scott *et al.*, 2009).

### 3.3. Effet de la durée de l'exercice physique sur la fonction ventriculaire droite

On remarque que la fonction diastolique du VD est, dans la grande majorité des études, diminuée après un EPP quelle que soit la durée de l'exercice (cf. *Tableau 6*). En effet, que ce soit après des marathons (Neilan *et al.*, 2006b; Oxborough *et al.*, 2006), des exercices de 6 heures ou plus (Carrio *et al.*, 1990; Douglas *et al.*, 1990; La Gerche *et al.*, 2008) ou bien des exercices d'ultra-endurance (Chan-Dewar *et al.*, 2010), toutes les études ont démontré des altérations de la fonction diastolique du VD caractérisées par une diminution de l'onde E et du rapport E/A évalués par échocardiographie Doppler standard et une diminution de l'onde E' et du rapport E'/A' évaluée par DTI. La diminution des rapports cités ci-dessus est majoritairement liée à l'augmentation des ondes A et A'. La fonction systolique du VD semble être diminuée après des exercices de 6 heures ou plus. Cette baisse de fonction est démontrée dans la littérature par une diminution de FE, FAC et par une diminution de l'onde S' mesurée par DTI. En revanche, après des marathons, quand celle-ci est évaluée, la fonction systolique du VD ne semble pas être altérée. Une seule étude à notre connaissance a évalué l'onde S' après marathon (Oxborough *et al.*, 2006) et n'a trouvé aucun changement de celle-ci, montrant ainsi aucune baisse de la fonction systolique du VD après la course.

**Bilan : Un EPP altère la fonction diastolique du VD et ce quelle que soit la durée de l'exercice. Sur la base des quelques travaux réalisés, la fonction systolique semble être diminuée après des EPP d'une durée supérieure à 6 heures alors qu'elle ne semble pas être modifiée après un EPP de durée modérée.**

Etudes évaluant la fonction ventriculaire droite par échocardiographie Doppler standard et tissulaire lors d'un exercice physique prolongé							
Auteurs	Année	Type d'exercice	Diastole			Systole	
			↓	-	↑	↓	-
Chan-Dewar	2010	89 km ultramarathon	E' et A'			S'	
La Gerche	2008	"Ironman"				FAC	
Oxborough	2006	marathon	E,E/A,E',E'/A'	E/E'	A et A'	S'	
Neilan	2006	marathon	E'		A'		
Dàvila-Romàn	1997	163 km ultratrail			Dilatation VD (moitié des sujets)	FAC (moitié des sujets)	
Carrio	1990	6 h course				FE	
Douglas	1990	"Ironman"	E/A	E	A		

**Tableau 6 : Effet d'un exercice physique prolongé sur la fonction ventriculaire droite évaluée par échocardiographie Doppler standard et tissulaire.**

E = pic de vitesse du flux mitral protodiastolique, A = pic de vitesse du flux mitral télédiastolique, E/A = indice de remplissage, E' = pic de vitesse protodiastolique de déplacement de la paroi myocardique, A' = pic de vitesse télédiastolique de déplacement de la paroi myocardique, E'/A' = indice de fonction diastolique, E/E' = indice de pression de remplissage, FE = fraction d'éjection, FAC = fraction de changement d'aire ventriculaire, S' = indice de contractilité. Références bibliographiques du *Tableau 6* : (Chan-Dewar *et al.*, 2010; Carrio *et al.*, 1990; Douglas *et al.*, 1990; Davila-Roman *et al.*, 1997; Neilan *et al.*, 2006b; Oxborough *et al.*, 2006; La Gerche *et al.*, 2008).

## 4. Synthèse

Alors que l'exercice physique régulier est reconnu par la communauté scientifique comme moyen incontestable de prévention des maladies cardiovasculaires, l'exercice physique prolongé produit des effets opposés en induisant une fatigue cardiaque transitoire caractérisée par une baisse des fonctions systolique et diastolique.

Toutefois, les dysfonctions observées dépendent de la durée de l'exercice. Ainsi, l'exercice de durée modérée (*i.e.* 1h-4h) engendre une dysfonction diastolique (onde E, E/A) sans modification notable de la fonction systolique (FE, FR) du VG et du VD (onde S'). La relaxation semble être altérée alors qu'aucune conclusion objective ne peut être établie concernant la contractilité du fait du nombre insuffisant de données existantes. L'exercice de longue durée (*i.e.* 4h-16h) est le plus délétère car il induit à la fois des dysfonctions diastolique et systolique associées à une baisse de la relaxation et de la contractilité du VG. Ce type d'exercice engendre également des dysfonctions diastolique (onde E, E', E/A, E'/A') et systolique (FE, FAC, onde S') du VD. L'exercice de très longue durée (*i.e.* > 24h) produit une dysfonction diastolique et semble avoir un effet délétère sur la fonction systolique du VG et du VD.

**PARTIE II : approche clinique des  
déterminants de la fatigue cardiaque**

心

## 1. Généralités

L'échocardiographie transthoracique bidimensionnelle (2D) et Doppler est la méthode diagnostique non-vulnérante utilisée de manière routinière en clinique pour évaluer la fonction cardiaque. Cependant, les approches échocardiographiques, dépendent du niveau d'expertise de l'opérateur (Pellikka *et al.*, 2007) et peuvent manquer de sensibilité pour détecter des anomalies précoces. Or, la quantification précise de ces anomalies représente un enjeu majeur dans le domaine de la cardiologie afin d'établir un diagnostic précoce et de recueillir des indices pertinents pour optimiser la prise en charge thérapeutique des patients.

Dans les années 1990, une nouvelle technique échocardiographique est apparue : le DTI. Cette technique de quantification des vitesses de déplacement des parois ventriculaires et des déformations myocardiques a révolutionné l'évaluation de la fonction cardiaque. Elle a notamment permis d'apprécier la composante longitudinale, plus sensible que l'évaluation de la FE pour détecter l'altération précoce de la fonction systolique (Gorcsan *et al.*, 1998). Cependant le DTI reste une technique dépendante des conditions de charge cardiaque et de l'angle de tir Doppler. Depuis 2004, une nouvelle technique échocardiographique a peu à peu été développée pour l'évaluation des déformations myocardiques. Cette technique, basée sur le suivi des marqueurs acoustiques de la paroi ventriculaire: le « Speckle Tracking Echocardiography » (Leitman *et al.*, 2004). Cette technique a pour avantage de s'affranchir de certaines limites du DTI comme l'angle de tir Doppler ou encore les mouvements de translation du cœur.

L'objectif de cette deuxième partie de la revue de la littérature est de présenter 1) l'apport du STE dans l'évaluation de la mécanique ventriculaire gauche et 2) dresser un bilan des études ayant utilisé le STE pour évaluer la fatigue cardiaque.



## 2. Fonction myocardique et Speckle Tracking Echocardiography

Comme nous l'avons souligné dans la première partie de la revue de la littérature, l'architecture complexe du myocarde forme un arrangement de fibres multidirectionnelles (Greenbaum *et al.*, 1981; Bogaert & Rademakers, 2001; Torrent-Guasp *et al.*, 2001; Sengupta *et al.*, 2006b; Thomas & Popovic, 2006). Cette organisation spécifique va engendrer différentes déformations myocardiques régularisées par une onde de dépolarisation apex / base et une onde de repolarisation base / apex (Sengupta *et al.*, 2006a). Grâce à l'analyse des déformations myocardiques par STE, il est possible d'obtenir des déterminants mécaniques et physiologiques précis des fonctions systolique (Serri *et al.*, 2006) et diastolique (Nagueh *et al.*, 2009).

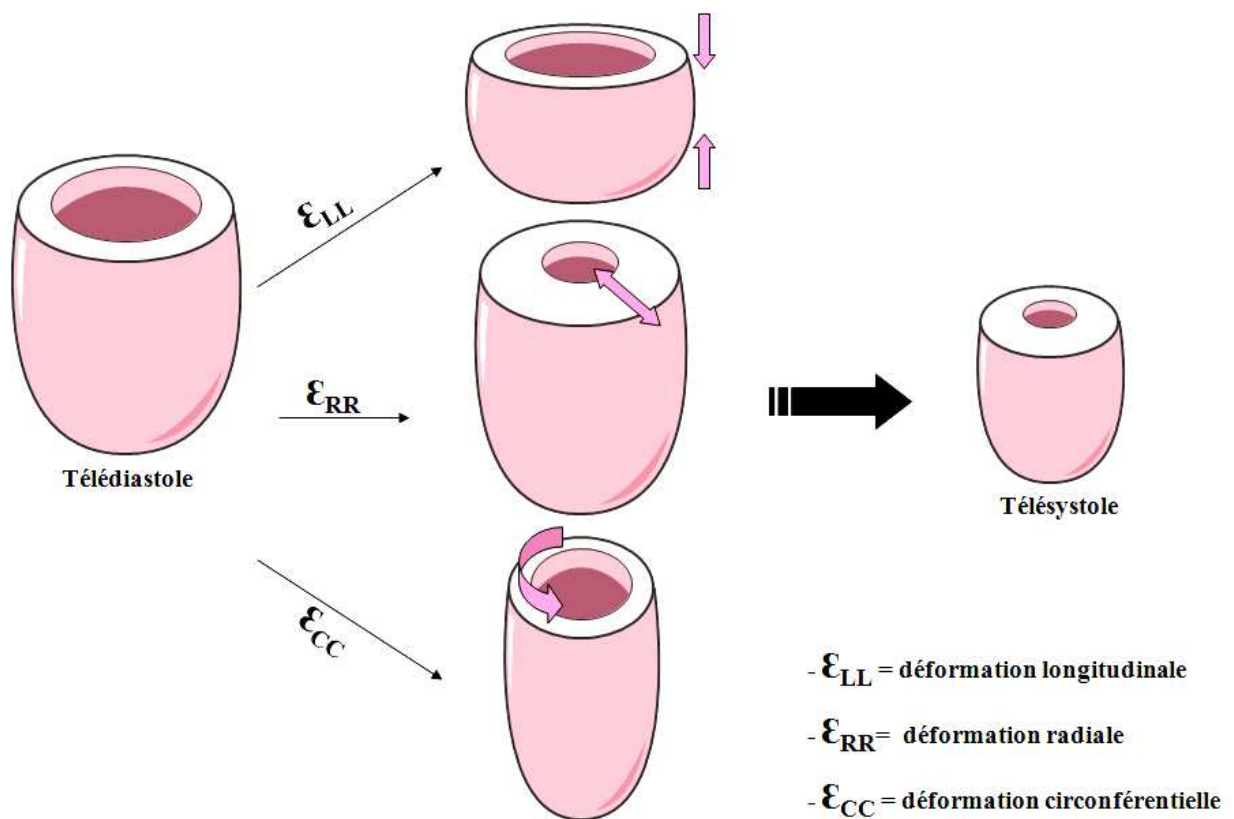
La validation des analyses par STE avec des méthodes de références telles que l'IRM cardiaque « taggée » (Helle-Valle *et al.*, 2005) ou la sonomicrométrie (Amundsen *et al.*, 2006) donnent encore plus de poids à l'utilisation du STE dans l'analyse du fonctionnement cardiaque et notamment celle des propriétés de contractilité et de relaxation du myocarde. De plus, il a été montré que le STE était une méthode simple, rapide et reproductible qui permet l'évaluation fine des fonctions myocardiques globale et régionale (Serri *et al.*, 2006).

### 2.1. Les déformations normales et les contraintes de cisaillement du VG

#### 2.1.1. Les déformations normales du VG

La systole, se caractérise par une phase de contraction des cardiomyocytes qui engendre des déformations ventriculaires. Ces déformations myocardiques (ou strains),

exprimées en %, représentent le changement d'état du myocarde par rapport à un état initial considéré en télédiastole (Yip *et al.*, 2003). Trois types de déformations normales (*i.e.* dans le repère orthonormé) sont observées pendant la systole : les déformations longitudinales, radiales et circonférentielles (cf. *Figure 8*).



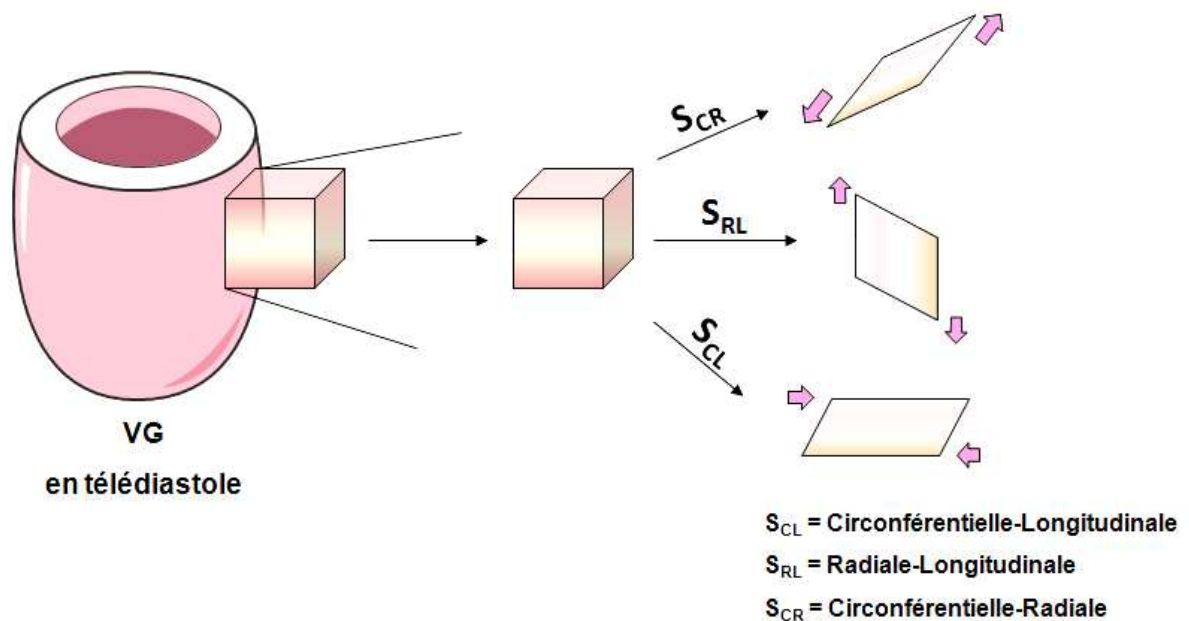
**Figure 8** : Les trois déformations normales du VG.

Ces déformations sont positives lorsqu'il y a allongement ou épaissement et négatives lors d'un raccourcissement des parois ventriculaires. Les déformations positives radiales représentent l'épaississement pariétal du VG, alors que les déformations négatives

circonférentielles et longitudinales représentent le raccourcissement des parois du VG au cours de la systole.

### 2.1.2. Les contraintes de cisaillement du VG

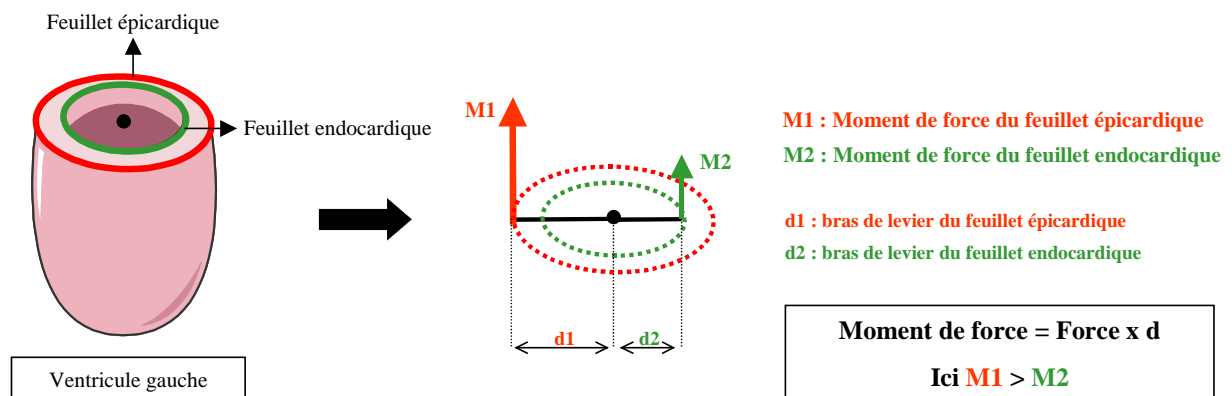
Pendant la systole, de part la direction différente des fibres selon les couches myocardiques, il se produit également des contraintes de cisaillement. Il en existe trois composantes : les contraintes circonférentielles-radiales, circonférentielles-longitudinales et radiales-longitudinales (cf. *Figure 9*).



**Figure 9 : Les contraintes de cisaillement myocardiques.**

À partir d'un fragment de myocarde en forme de cube en fin de diastole (à gauche), les différentes contraintes de cisaillement pendant la systole (à droite) peuvent être analysées selon une combinaison entre les déformations normales et les contraintes de cisaillement (à droite). D'un cube en télédiastole, on passe à des parallélépipèdes par la combinaison des déformations normales et des contraintes de cisaillement (à droite). Figure adaptée de Bogaert et *al* (2001).

À noter, la contrainte de cisaillement circonférentielle-longitudinale engendre un mouvement de torsion. Ce mouvement de torsion du VG résulte de la contraction des feuillets endocardique et épïcardique enroulés en double hélice autour du VG. D'un point de vue mécanique, le feuillet épïcardique, étant situé plus loin du centre du VG que le feuillet endocardique, possède un moment de force supérieur à celui-ci (cf. *Figure 10*).

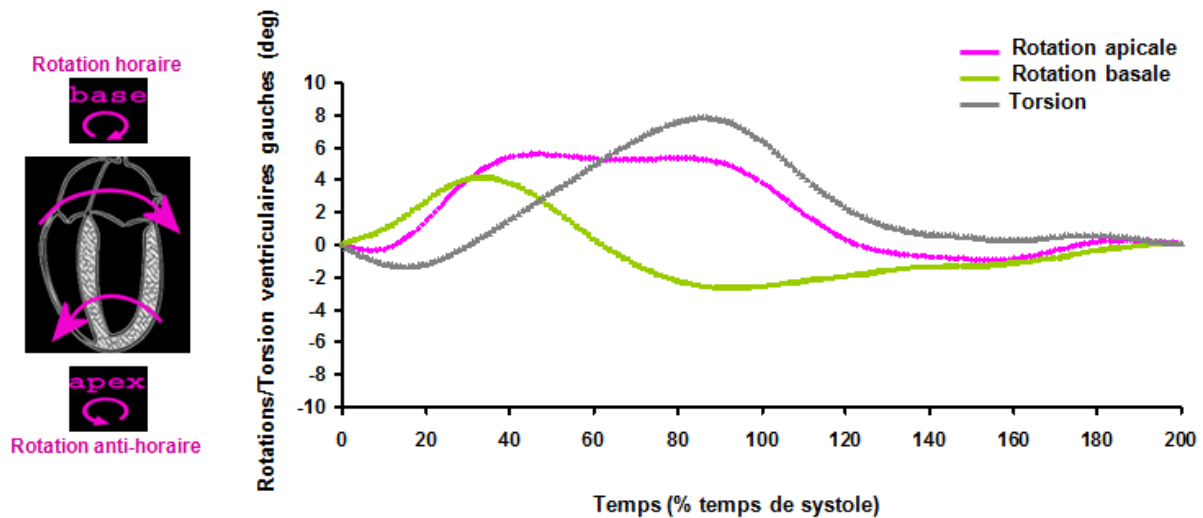


**Figure 10 : Schématisation des moments de force au niveau des feuillets endocardique et épïcardique.**

Le moment de force développé par l'épïcarde (rouge) est supérieur à celui développé par l'endocarde (vert) car il possède un bras de levier supérieur à ce dernier. Par conséquent le mouvement global de la torsion du VG suit le mouvement de l'épïcarde.

Au cours de la phase de contraction isovolumétrique, il se produit une rotation horaire (valeur de rotation négative) à l'apex et une rotation anti-horaire (valeur de rotation positive) à la base, le sens de rotation (ou de torsion) étant défini en se plaçant à partir de l'apex. Au cours de cette phase, les mouvements de rotation sont liés à l'activation précoce du feuillet endocardique sans activation du feuillet épïcardique. Toutefois, dès l'activation du feuillet épïcardique, le sens des rotations apicale et basale s'inverse du au moment de force supérieur du feuillet épïcardique. Ainsi, pendant la phase d'éjection, il se produit une rotation anti-horaire à l'apex et une rotation horaire à la base (cf. *Figure 11*). En outre, l'angle de torsion est positif signifiant que le mouvement général de torsion du VG est dans le sens anti-horaire.

Le profil de torsion se caractérise par un mouvement horaire d'environ  $-1^\circ$  en début de systole lié à l'activation précoce du feuillet endocardique puis par un mouvement anti-horaire lié à l'activation du feuillet épicardique; atteignant environ  $10^\circ$  à la fin de la phase d'éjection.



**Figure 11 : Cinétiques des rotations apicales et basales ainsi que de la torsion du VG chez un sujet sain en condition de repos.**

Les rotations apicales anti-horaires et les rotations basales horaires pendant la systole sont dues à l'activation du feuillet épicardique avec un moment de force supérieur à celui du feuillet endocardique. La valeur maximale des rotations basales chez le sujet sain est négatives (environ  $-4^\circ$ ). Les rotations apicales sont quant à elles positives (environ  $6^\circ$ ). Par conséquent, les torsions ventriculaires gauches se situent aux environs de  $10^\circ$  chez le sujet sain. Le 100 % du temps de systole correspond à la fin de la phase de contraction du VG. Le 200 % du temps de systole correspond à la fin de la phase de relaxation du VG.

La mécanique du VG est complexe. Le VG subit différentes déformations et contraintes pariétales au cours du cycle cardiaque. On se rend alors compte de la nécessité de disposer d'outils expérimentaux capables d'évaluer de manière précise les déformations ventriculaires afin d'obtenir une approche plus qualitative de la mécanique ventriculaire gauche.

## 2.2. Apport du STE dans l'évaluation de la mécanique ventriculaire gauche

### 2.2.1. Principe

Récemment, une nouvelle technologie d'analyse des déformations myocardiques est apparue : le STE. Cette technique permet d'analyser les déformations ventriculaires par le suivi de marqueurs acoustiques myocardiques. Le STE est une technologie fonctionnant par la reconnaissance et le suivi au cours du cycle cardiaque de motifs fixes appelés « speckles » (Geyer *et al.*, 2010)(cf. *Figure 12*). Les speckles sont un artefact de diffraction des ondes ultrasonores et ont la particularité d'être constants au cours du temps, rendant leur analyse très reproductible. L'analyse de leur déplacement, dans une région d'intérêt de la paroi myocardique à partir de l'enregistrement d'une boucle échocardiographique 2D, permet d'évaluer directement les valeurs des déformations régionales et globales sans passer par les vitesses comme pour le DTI.

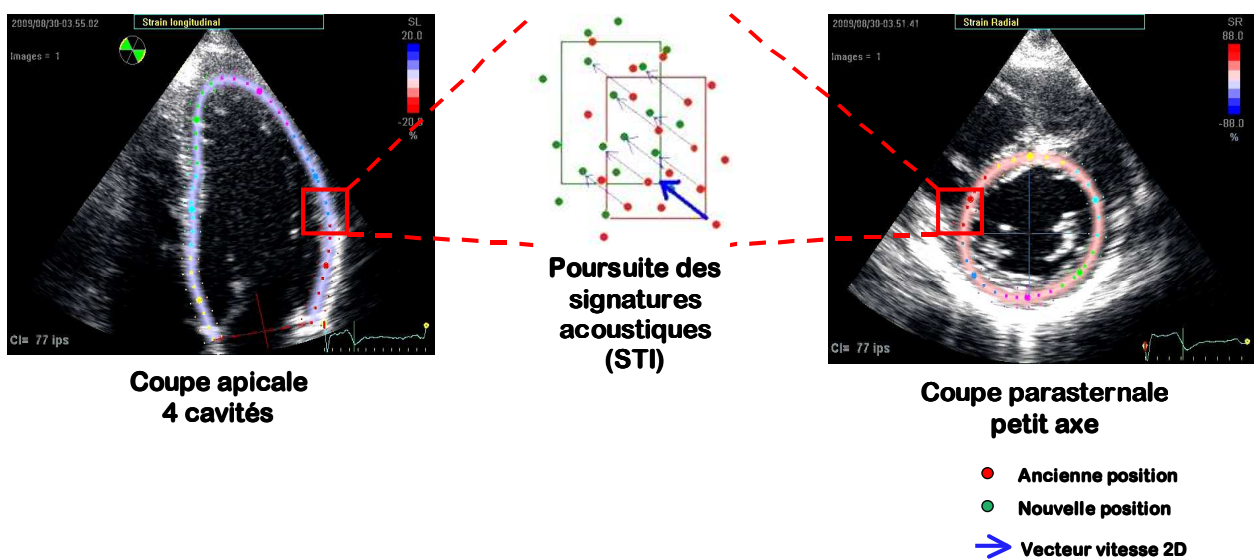


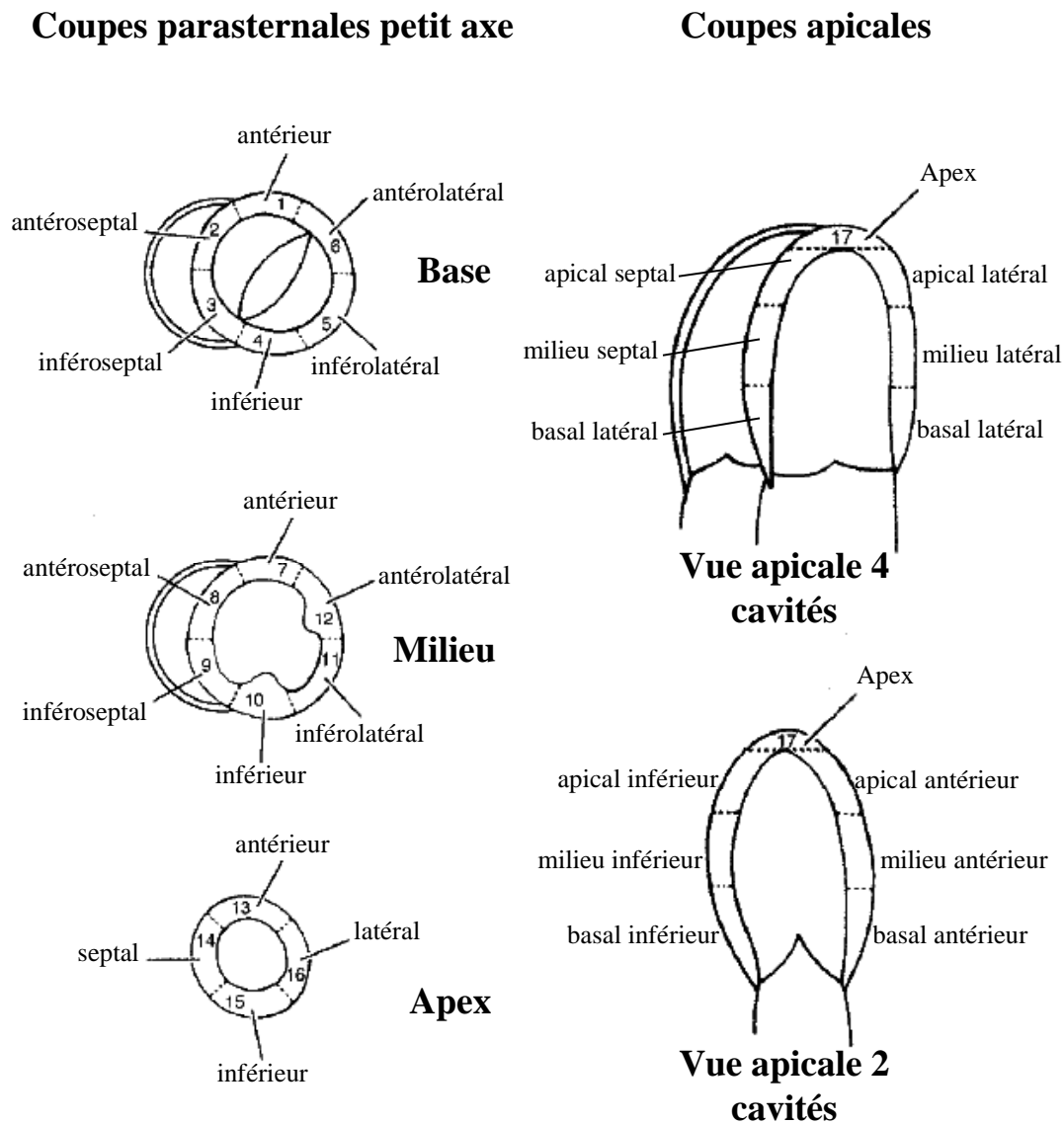
Figure 12 : Représentation schématique du principe d'analyse des images échocardiographiques par STE.

### 2.2.2. Évaluations des déformations myocardiques normales par STE

L'analyse des déformations longitudinales, radiales et circonférentielles par STE a été validée en comparaison avec des méthodes de références telles que l'IRM cardiaque « taggée » et la sonomicrométrie. Ainsi, le STE est une technique échocardiographique pertinente pour l'évaluation globale des différentes déformations du VG.

Le STE permet également une évaluation régionalisée du muscle cardiaque. D'une part, le STE permet une analyse de la fonction myocardique selon trois niveaux : à la base, au milieu et l'apex. Ainsi, il est possible d'évaluer la fonction du myocarde au niveau de la base, du milieu et de l'apex du VG. D'autre part, le STE permet une analyse segmentaire de la fonction myocardique. Selon les recommandations de l'American Heart Association (AHA) (Cerqueira *et al.*, 2002), le cœur devrait être divisé en 17 segments pour l'analyse du myocarde et de la cavité ventriculaire gauche. Grâce au STE, il est possible d'enregistrer différents plans de coupe. La coupe apicale permet d'analyser les déformations longitudinales du VG selon les vues apicales 4 et 2-cavités. La coupe parasternale petit axe permet d'analyser les déformations circonférentielles et radiales ainsi que les mouvements de rotation au niveau de la base, du milieu et de l'apex du VG. Ainsi, il est possible de moyenner les valeurs des déformations obtenues sur les différents plans de coupe afin d'obtenir une valeur globale de déformation des 17 segments d'analyse (cf. *Figure 13*). L'analyse de ces déformations nous renseigne sur le pourcentage d'épaississement ou de raccourcissement du muscle cardiaque. Leurs valeurs maximales peuvent donc représenter des indices de contraction myocardiques (Sengupta *et al.*, 2006b).

Enfin, le STE permet d'obtenir le taux de déformation ou « strain rate » (SR) à partir de la dérivée temporelle d'une déformation donnée. Les SR, exprimés en  $s^{-1}$ , renseignent sur la vitesse de déformation des parois myocardiques au cours de la révolution cardiaque.



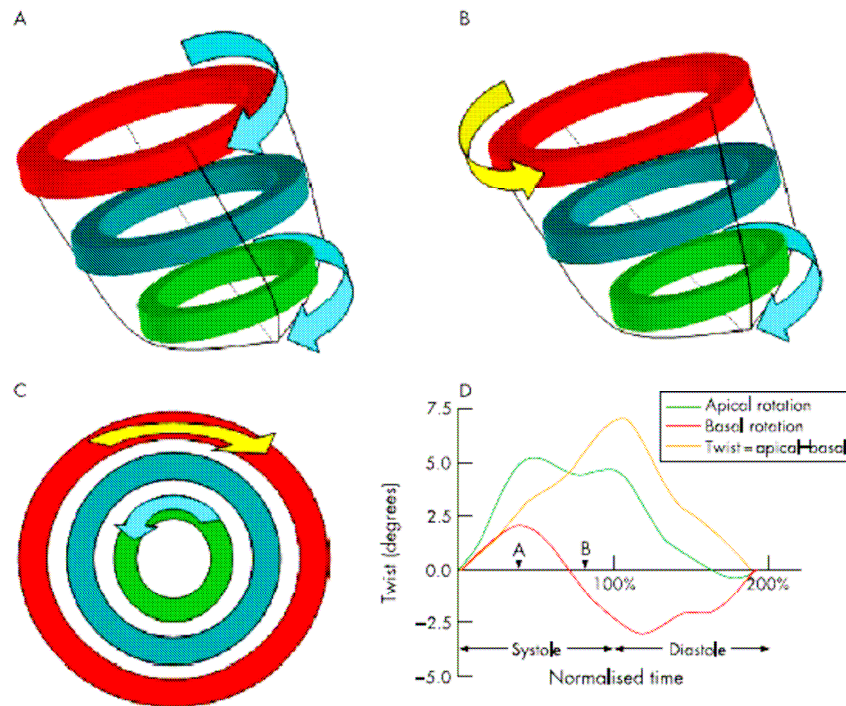
**Figure 13 : Schématisation des 17 segments d'analyse pour l'évaluation régionalisée du myocarde et de la cavité ventriculaire gauche selon les recommandations de l'AHA.**

Figure adaptée de Cerqueira et al (2002).



### 2.2.3. Évaluations des rotations et de la torsion du VG par STE

Comme nous l'avons dit précédemment, l'incidence parasternale petit axe permet d'évaluer les déformations circonférentielles et radiales ainsi que les mouvements de rotation à la base et à l'apex et donc la torsion du VG. La rotation se définit comme le mouvement circulaire des points des sections du petit axe du myocarde, vu de l'extrémité apicale, autour du centre des masses du VG à partir de la fin de la diastole (Henson *et al.*, 2000). Vu de l'extrémité apicale, la base tourne dans le sens horaire alors que l'apex tourne dans le sens anti-horaire (cf. *Figure 14*). Il est alors possible d'évaluer la torsion ventriculaire globale qui se définit comme la différence de rotation entre la base et l'apex par rapport à la distance entre les deux plans de rotation (Henson *et al.*, 2000) : **Torsion (deg) = rotation apicale - rotation basale.**



**Figure 14 : Représentation schématique des mouvements de rotation du VG pendant le cycle cardiaque.**

Vue antérieure au tout début de la systole (A) et en milieu de systole (B) et vue de l'apex en milieu de systole (C). Cinétique de la torsion en fonction du temps d'un adulte sain masculin au repos (D) avec les rotations anti-horaires arbitrairement définies comme positives et le temps normalisé en pourcentage de la durée de systole. Au tout début de la systole (A), l'apex (vert) et la base (rouge) tournent dans le sens anti-horaire (flèches bleues). Plus tard dans la systole (B) l'apex tourne dans le sens anti-horaire et la base dans le sens horaire (flèche jaune) créant ainsi le mouvement de torsion. La torsion (orange) est calculée par la soustraction de la rotation basale à la rotation apicale. Figure tirée de Burns *et al* (2008) (Burns *et al.*, 2008).

#### 2.2.4. Indices fonctionnels dérivés des analyses par STE

##### ➤ Indices utilisés pour l'étude de la fonction systolique

La contractilité est la propriété fondamentale du myocarde qui décrit son état actif. Cette propriété n'est pas influencée par les conditions de charge cardiaque (Nesbitt *et al.*, 2009). Dans la littérature scientifique, le pic systolique de vitesse de déplacement des parois ventriculaires intervenant précocement est utilisé comme un indice de fonction systolique plus

précis que la FE (Stoylen *et al.*, 1999) et les pics de vitesse de déformation systolique dérivés du Doppler tissulaire couleur sont considérés comme des indices de contractilité du VG (Greenberg *et al.*, 2002).

Toutefois, à notre connaissance, aucun indice de contractilité du myocarde dérivé des mesures effectuées par STE n'a été validé à ce jour. Aucune étude ne s'est attachée à corrélérer les déformations longitudinales, radiales et circonférentielles ainsi que leurs vitesses de déformation associées à des indices reconnus de contractilité comme  $dP/dt_{max}$ . Néanmoins, le STE permet d'analyser les mouvements de rotation du VG et à ce sujet, une étude récente chez le chien, a montré une corrélation significative entre la rotation apicale mesurée par STE, la torsion et  $dP/dt_{max}$  (respectivement :  $R^2 = 0,67$  ;  $P < 0,001$  et  $R^2 = 0,89$  ;  $P < 0,001$ ) (Kim *et al.*, 2009). Ces auteurs proposent d'utiliser la rotation apicale comme un indice de contractilité ventriculaire. Cette proposition est en accord avec un travail antérieur dans lequel ces mêmes auteurs ont suggéré que la rotation apicale était étroitement liée avec la performance systolique du VG (Kim *et al.*, 2007).

En outre, il existe d'autres indices dérivés du STE comme le pic de la déformation longitudinale (Stefani *et al.*, 2009) mesuré de manière automatique à partir d'une coupe apicale 4 cavités au niveau des segments apical et basal sur la paroi libre et le septum interventriculaire du VG ou encore la déformation longitudinale globale (Reisner *et al.*, 2004) calculée en réalisant la moyenne des déformations longitudinales des coupes apicales 4,3 et 2-cavités mesurées à la base, au milieu et à l'apex du VG. Il est suggéré que les deux indices présentés ci-dessus sont des indices de fonction myocardique globale et régionale (Urheim *et al.*, 2000; Reisner *et al.*, 2004). Cependant, ces deux indices ne sont pas des indices de contractilité du myocarde.

➤ Indices utilisés pour l'étude de la fonction diastolique

La relaxation est le processus par lequel le myocarde retourne de manière active après la contraction, à ses conditions initiales de charge et de longueur (Chemla *et al.*, 2000). Ce processus actif associé au retour élastique des composants passifs du myocarde (Chemla *et al.*, 2000) entraîne une chute de tension des myofilaments qui va causer la baisse de pression dans la cavité du VG pendant la phase de RIV. De plus, le mouvement de détorsion du VG, sous l'effet de la relaxation du myocarde mais aussi et surtout de la restitution de l'énergie élastique contenue dans les composants passifs du myocarde (Granzier *et al.*, 2005) va jouer un rôle très important dans la diminution des pressions au niveau de l'apex dans la cavité du VG (Notomi *et al.*, 2008). Il se crée alors un gradient de pression intraventriculaire entre la base et l'apex qui va permettre l'effet succion du sang vers le VG et initier le remplissage passif (Nikolic *et al.*, 1995). Ainsi, au cours de la diastole, il est possible d'évaluer par STE ce mouvement de détorsion et sa vitesse associée pour évaluer les mécanismes sous-jacents à des modifications de fonction diastolique.

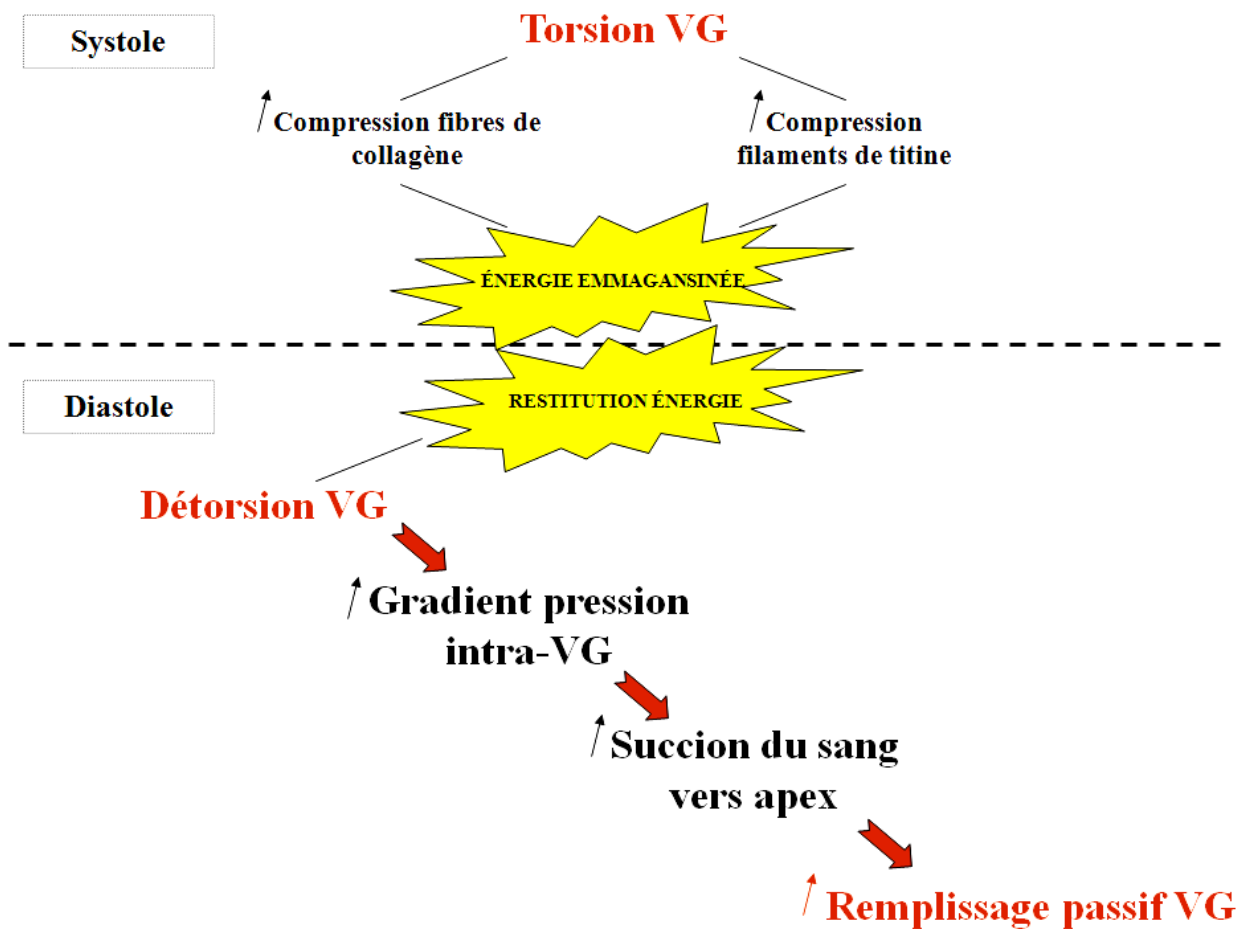


Figure 15 : Schéma des différents événements démontrant l'importance de la torsion dans le remplissage du VG.

**Bilan :** L'évaluation de la contractilité et de la relaxation du myocarde est rendue possible à partir d'indices dérivés des rotations, torsion et de leurs vitesses associées mesurés par STE et validés par rapport à des indices reconnus de contractilité (*i.e.*  $dP/dt_{max}$ ) et de relaxation (*i.e.* Tau). De plus, l'investigation des mécanismes sous-jacents à la fonction diastolique est rendue possible à partir de l'étude du mouvement de torsion / détorsion.

Études	Indices de contractilité du VG	Indices de relaxation du VG
<b>Dong, 2001</b> (Chien)		Vitesse maximale de détorsion
<b>Takeuchi, 2007</b> (Homme)		Vitesse de détorsion pendant la RIV
<b>Wang, 2007</b> (Chien)		SRL pendant la RIV
<b>Notomi, 2008</b> (Chien)		Pic de vitesse de détorsion
<b>Burns, 2009</b> (Homme)		Délai d'atteinte pic de détorsion
<b>Kim, 2009</b> (Chien)	Vitesse de rotation apicale	

**Tableau 7 : Indices de contractilité et de relaxation du VG dérivés des déformations, des rotations et de la torsion ainsi que des vitesses associées mesurés par STE.**

RIV = relaxation isovolumétrique ; SRL = strain rate longitudinal. Références bibliographiques du *Tableau 7* : (Dong *et al.*, 2001; Takeuchi *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2007; Notomi *et al.*, 2008; Burns *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2009).

### 3. Exercice physique prolongé et Speckle Tracking Echocardiography

Au regard de la littérature, la majorité des études réalisées après des EPP ont évalué la fonction cardiaque par des techniques d'imagerie Doppler standard et tissulaire. Peu d'études ont utilisé le STE pour évaluer la fonction cardiaque après l'effort. Le *Tableau 8* ci-dessous présente une synthèse des résultats des études ayant évalué la fonction cardiaque post-effort par STE.

Études échocardiographiques ayant utilisé le Speckle Tracking Echocardiography lors d'un exercice physique prolongé								
Auteurs	Année	Type d'exercice	Diastole			Systole		
			↓	-	↑	↓	-	↑
Banks	2010	150 min course	SRe/a (VG et VD)			S (VG et VD)	SRs (VG et VD)	
George	2009	89 km ultramarathon	SRE rad,circ	SRE long		S rad,circ,long et SRS circ	SRS rad,long	
Nottin	2009	"Ironman"	SRE rad,circ,long et UR			S rad,circ,long et torsion, SRS rad,circ et TR	SRS long	
Goodman	2009	120 min ergocycle				S VG		
Scott	2009	160 km ultramarathon	SRE rad,circ,long			S rad,circ,long et SRS long	SRS rad,circ	
Dawson	2008	marathon	SRE et SRE/A rad,circ,long				S et SRS rad,circ,long	

**Tableau 8 : Effet d'un exercice physique prolongé sur la fonction cardiaque évaluée par STE.**

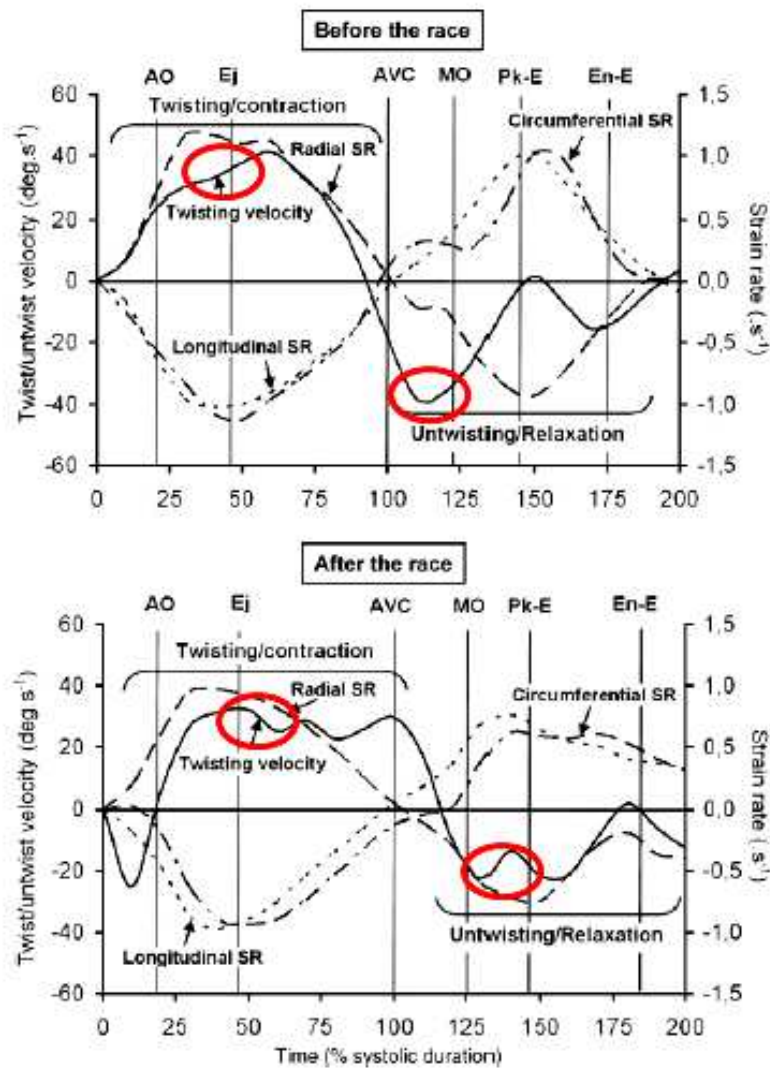
VG = ventricule gauche, VD = ventricule droit, S = déformation, SR = vitesse de déformation, rad = radial, circ = circonférentiel, long = longitudinal, SRE = pic de vitesse des déformations diastoliques précoces, SRe/a et SRE/A = pics de vitesse des déformations diastoliques, SRs et SRS = pics de vitesse des déformations systoliques, TR = vitesse de torsion, UR = vitesse de détorsion. Références bibliographiques du *Tableau 8* : (Banks *et al.*, 2010; Dawson *et al.*, 2008; George *et al.*, 2009; Goodman *et al.*, 2009; Nottin *et al.*, 2009; Scott *et al.*, 2009).

Les pics de vitesse des déformations diastoliques sont diminués après un EPP de durée modérée (Banks *et al.*, 2010; Dawson *et al.*, 2008). Ces diminutions sont observées au niveau du VG comme du VD (Banks *et al.*, 2010) et selon Dawson *et al.* (2008), pour les trois déformations normales du VG. Alors que les déformations semblent être diminuées pendant la systole au niveau du VG (Banks *et al.*, 2010; Goodman *et al.*, 2009) et du VD (Banks *et al.*, 2010), les vitesses de déformation systolique des deux ventricules ne sont pas diminuées après un EPP de durée modérée quel que soit le plan de déformation (Dawson *et al.*, 2008). Ainsi, ces résultats soulignent le fait que ce type d'exercice altère la relaxation du myocarde et non sa contractilité. Cependant, après un EPP de durée modérée, la fréquence cardiaque est plus élevée (Neilan *et al.*, 2006b) ainsi que la concentration plasmatique en catécholamines circulantes (Starkie *et al.*, 2001). Ces facteurs, lors de la récupération post-effort, modulent certainement la fonction cardiaque et peuvent masquer certaines dysfonctions faussant ainsi l'interprétation des résultats.

Concernant les EPP de longue durée (George *et al.*, 2009; Nottin *et al.*, 2009), les résultats sont cette fois plus tranchés. En effet, les vitesses de déformation diastolique sont diminuées sur toutes les composantes de déformation (Nottin *et al.*, 2009) suggérant une baisse de la relaxation myocardique. À la différence d'un EPP de durée modérée, un EPP de longue durée entraîne non seulement une diminution des déformations mais aussi une diminution des vitesses de déformation systolique circonférentielles et radiales suggérant une baisse de la contractilité myocardique. Les vitesses de déformation systolique longitudinale restent, quant à elles, identiques après l'exercice (George *et al.*, 2009; Nottin *et al.*, 2009). En outre, il est important de noter que Nottin *et al.* (2009) ont également mesuré les vitesses de torsion et de détorsion du VG après un triathlon distance « Ironman ». Ces auteurs ont démontré que les pics des vitesses de torsion et de détorsion du VG sont diminués et



interviennent plus tardivement après l'effort (cf. *Figure 16*). L'absence de détorsion pendant la RIV induite par le retard du pic de détorsion peut être responsable d'une altération du remplissage ventriculaire gauche en protodiastole et expliquer en partie la baisse de fonction diastolique observée à la suite de ce type d'exercice. De plus, le retard du pic de torsion après l'effort peut entraîner une diminution de la libération de l'énergie emmagasinée dans les structures passives et potentiellement diminuer la détorsion et donc la fonction de remplissage du VG. Ce point met en évidence les conséquences d'une diminution du stockage de l'énergie pendant la torsion sur la diminution du pic de vitesse de détorsion après la course. Ce point met également un accent sur l'intérêt d'étudier ces mouvements de torsion et de détorsion pour aller plus loin dans l'exploration des mécanismes sous-jacents à la fonction diastolique. Ainsi, un EPP de longue durée entraîne des dysfonctions diastolique et systolique associées respectivement à des baisses de relaxation et de contractilité du myocarde.



**Figure 16 : Pics de vitesse de torsion / détorsion retardés après un triathlon distance « Ironman ».**

Courbes obtenues après avoir moyenné les valeurs des 23 triathlètes de l'étude. Les cercles rouges indiquent les pics de vitesse de torsion (« twisting ») et de détorsion (« untwisting ») avant (graphique en haut) et après (graphique en bas) la course. On remarque que les pics de vitesse de torsion / détorsion sont diminués après la course et que ces pics interviennent plus tardivement dans le temps. Ainsi on peut voir sur le graphique du bas que les pics de vitesse de torsion / détorsion interviennent respectivement après le pic de vitesse d'éjection et après l'ouverture des valves mitrales soit après la RIV. AO = ouverture des valves aortiques ; Ej = pic de vitesse d'éjection ; AVC = fermeture des valves aortiques ; MO = ouverture des valves mitrales ; Pk-E = pic de vitesse du remplissage passif ; En-E = fin du remplissage passif. Figure adaptée de Nottin *et al* (2009).

Enfin, à ce jour une seule étude a évalué la fonction cardiaque par STE après un EPP de très longue durée (Scott *et al.*, 2009). Les auteurs ont montré une diminution des vitesses des déformations en protodiastole sur tous les plans de déformation. Ces mêmes auteurs ont démontré une baisse de la fonction systolique du VG caractérisée par une diminution des

déformations systoliques dans les plans longitudinal, radial et circonférentiel avec peu de changement concernant les vitesses des déformations systoliques. Cependant, comme pour les EPP de durée modérée, aucune étude n'a évalué les rotations et les mouvements de torsion et de détorsion du VG après un EPP de très longue durée. La mesure de ces paramètres par STE et les indices dérivés de contractilité et de relaxation du myocarde permettraient d'appréhender les mécanismes sous-jacents à la fonction cardiaque après ce type d'EPP caractérisé par des efforts extrêmes en terme de durée (*i.e.* > 24 heures) mais faibles en terme d'intensité de course.

#### 4. Synthèse et présentation des études cliniques

Le STE permet une évaluation des déformations myocardiques régionales (*e.g.* apex, base, segmentation du VG) à partir d'images en 2D permettant ainsi d'appréhender la mécanique cardiaque. Le STE permet également d'approcher 1) les propriétés de contractilité et relaxation à partir des déformations myocardiques et 2) les mécanismes sous-jacents à la fonction diastolique à partir de l'étude des mouvements de torsion et de détorsion.

Quelques études ont utilisé le STE pour l'évaluation des dysfonctions cardiaques induites par un EPP. Les premières études menées après des EPP de longue durée (*i.e.* 5h à 16h) ont largement rapporté des baisses de la fonction diastolique et de la fonction systolique associées à des baisses de relaxation et de contractilité myocardiques. Ces dernières ont été caractérisées par une diminution des vitesses des déformations diastoliques et systoliques et une diminution des pics des vitesses de torsion et de détorsion. Les résultats concernant les études réalisées après un EPP de durée modérée (*i.e.* 1h à 4h) sont plus contrastés. Il est clairement établi que ce type d'exercice entraîne une baisse de la fonction diastolique du VG associée à une diminution de la relaxation du myocarde. En revanche des doutes subsistent concernant la fonction systolique. En effet, les déformations sont diminuées après l'exercice alors que les vitesses systoliques associées ne le sont pas. Ces résultats peuvent être dus à une tachycardie et à des taux plasmatiques en catécholamines circulantes supérieurs après l'EPP.

Dans ce contexte, **l'objectif de l'étude n°1 de ce travail de thèse a été d'évaluer par STE la contractilité du myocarde à la suite d'un EPP de durée modérée chez des sujets actifs sains.** Les mesures des déformations, de la torsion du VG ainsi que de leurs vitesses associées ont été réalisées en laboratoire. Elles ont été réalisées avant et après une épreuve de pédalage de 3h sur ergocycle, non seulement en condition de repos, mais aussi lors d'un exercice progressif durant lequel la FC de chaque sujet était identique à celle atteinte lors de l'exercice progressif réalisée avant l'EPP. Au repos comme à l'effort, la fonction cardiaque a été évaluée par STE afin d'apprécier les évolutions de contractilité et de relaxation myocardiques intrinsèques. **Nous avons émis l'hypothèse qu'un EPP de durée modérée induit une diminution de la contractilité du myocarde dans des conditions standardisées de FC et de charge cardiaque.**

Concernant maintenant les exercices de très longue durée (*i.e.* > 24h), une seule étude a évalué la fonction cardiaque par STE. Il est important de noter que cette étude n'a pas mesuré les rotations et les mouvements de torsion et de détorsion du VG après l'exercice. Ces exercices très particuliers sont caractérisés par des durées hors normes et des intensités de course relativement modérées. Des études ont également montré que ce type d'EPP entraîne une augmentation du volume plasmatique (Fallon *et al.*, 1999; Glace *et al.*, 2002) susceptible de modifier la fonction cardiaque à la suite de l'effort. Cette expansion peut être liée à une augmentation de la réabsorption du sodium au niveau du tube proximal et à une diminution du flux sanguin rénal (Nagashima *et al.*, 2001). Cependant, peu d'informations existent concernant les effets de ce type d'EPP sur les fonctions ventriculaires droites et gauches en lien avec les variations de volume plasmatique et les altérations de la structure myocardique.

Ainsi, l'objectif de l'étude n°2 de ce travail de thèse a été d'évaluer par STE la fonction du VG et du VD à la suite de l'épreuve The North Face® Ultra Trail du Mont-Blanc® (UTMB®) chez des sujets très entraînés en endurance. En plus de l'évaluation du VG, des mesures des déformations et des vitesses de déformation longitudinale du VD ont été réalisées en laboratoire en condition de repos après la course. L'évaluation du volume plasmatique, de la volémie et le dosage des troponines I cardiaques (*i.e.* marqueurs de dommages cellulaires cardiaques) ont également été réalisés avant et après l'épreuve. **Nous avons émis l'hypothèse qu'une course d'ultra-endurance à haute altitude telle que l'UTMB®, induit une augmentation du volume plasmatique, du volume sanguin ainsi qu'une augmentation des dommages cellulaires cardiaques associés à une modification spécifique des fonctions ventriculaires droite et gauche.**

**PARTIE III : approche fondamentale des  
déterminants de la fatigue cardiaque**

心

## **1. Généralités**

Malgré l'apport riche des techniques d'imagerie cliniques dans la description des déterminants de la fatigue cardiaque, il est impossible de par son caractère intégré, d'appréhender les mécanismes physiologiques sous-jacents aux dysfonctions diastolique et systolique.

De manière similaire à ce qui est observé chez l'homme, des études menées sur différents modèles animaux ont mis en évidence des dysfonctions cardiaques à la suite d'un EPP. Grâce à l'utilisation de l'animal dans une approche fondamentale, il est possible d'explorer les mécanismes cellulaires et moléculaires à l'origine de ces dysfonctions. Ainsi, l'originalité de ce travail de doctorat a été d'utiliser, en parallèle à l'approche clinique, une approche fondamentale pour appréhender les mécanismes cellulaires potentiellement impliqués dans ces désordres transitoires.

Dans ce contexte, l'objectif de cette troisième partie de la revue de la littérature est d'établir 1) un bilan des différents modèles d'exercice utilisés chez l'animal pour induire des dysfonctions cardiaques et 2) de réaliser un bilan des mécanismes cellulaires potentiellement impliqués dans la fatigue cardiaque.



## 2. Caractérisation de la fatigue cardiaque induite par un exercice physique prolongé chez l'animal

### 2.1. Modèles animaux utilisés pour caractériser la fatigue cardiaque

Le tableau (cf. *Tableau 9*) ci-dessous présente un bilan des études de la fonction cardiaque chez l'animal après différents types d'EPP. Très peu d'études ont réalisé une évaluation de la fonction cardiaque après un EPP chez l'animal. Nous pouvons remarquer que ces dernières ont utilisé le rat comme animal d'expérimentation. Seule une étude a évalué la fonction cardiaque chez le chien (Grimditch *et al.*, 1981).

Les exercices ont été principalement réalisés sur tapis roulant motorisé. La durée de course était comprise entre 60 minutes et 201 minutes. L'intensité de course sur tapis roulant était en moyenne de 24 m.min<sup>-1</sup> avec des pentes allant de 0 % à 12,5 % d'inclinaison chez le rat et de 150 m.min<sup>-1</sup> avec une pente de 10 % chez le chien. Seule une étude a réalisé un exercice de nage prolongée ou les rats étaient lestés avec des poids équivalents à 2 % de leur masse corporelle pendant plus de 300 minutes (Venditti *et al.*, 2001).

## Études de la fonction cardiaque réalisées chez l'animal après un EPP

Auteurs	Année	Animal	Type d'exercice	Résultats importants de l'étude
Wonders	2007	Rat	60' course (tapis roulant: 25m/min, 5% pente)	Baisse $dP/dt_{max}$ et $dP/dt_{min}$ du VG juste après exercice et 24h, 48h post-exercice, pas de baisse de LVDP Dysfonction du VG transitoire ( fonction normale 72h post-exercice) <b>(cœur isolé perfusé)</b>
Venditti	2001	Rat	300' et 480' nage (avec poids: 2% masse corporelle)	Diminution avant ischémie de LVDP et $dP/dt_{max}$ post-exercice <b>(cœur isolé perfusé)</b>
Seward	1995	Rat	75' course (tapis roulant: 18 m/min, 0% pente)	Pas diminution débit cardiaque, LVPmax, produit pression x fréquence post-exercice <b>(cœur isolé perfusé travaillant)</b>
Grimditch	1981	Chien	80' course (tapis roulant: 150 m/min, 10% pente)	Augmentation de $dP/dt_{max}$ et aucunes variations du VES et de la pression en protodiastole à l'épuisement <b>(mesures invasives in vivo)</b>
Maher	1972	Rat	201' course (tapis roulant: 30 m/min, 12,5% pente)	Diminution pic de tension isométrique, vitesse de raccourcissement des muscles trabeculae carnae du VG (~papillaire) <b>(muscles trabeculae carnae isolés)</b>

**Tableau 9 : Synthèse des études de la fonction cardiaque réalisées chez l'animal après un EPP.**

VG = ventricule gauche, LVDP = pression développée dans le VG, LVPmax = pression maximale dans le VG,  $dP/dt_{max}$  = contractilité,  $dP/dt_{min}$  = relaxation, FC = fréquence cardiaque. Références bibliographiques du Tableau 9 : (Maher *et al.*, 1972; Grimditch *et al.*, 1981; Seward *et al.*, 1995; Venditti *et al.*, 2001; Wonders *et al.*, 2007).

## 2.2. Indices mesurés

### 2.2.1. Évaluation *in vivo*

À notre connaissance, seuls Grimditch *et al* (1981) ont évalué la fonction cardiaque chez l'animal *in vivo* après un EPP. L'avantage principal de cette technique d'investigation est l'évaluation directe de la fonction cardiaque dans son contexte physiologique. À partir de

sondes implantées au niveau de l'aorte ascendante et de l'artère coronaire circonflexe et de capteurs de pression positionnés dans la paroi de l'aorte descendante latérale et dans la paroi libre du VG, les auteurs n'ont pas observé de baisse du VES et de  $dP/dt_{max}$  au moment de l'épuisement des chiens. Ces résultats suggèrent que la fonction cardiaque n'est pas altérée.

Cependant, les mesures réalisées au cours de ce protocole ne sont pas indépendantes des conditions de charge cardiaque et n'ont pas été réalisées dans des conditions standardisées de FC. Cela pourrait expliquer en partie les résultats obtenus. De plus, cette technique présente un caractère vulnérant qui peut moduler les variables physiologiques mesurées.

### 2.2.2. Évaluation *ex vivo*

En général, les évaluations cardiaques *ex vivo* sont réalisées à partir des modèles de cœur isolé perfusé de Langendorff (Venditti *et al.*, 2001; Wonders *et al.*, 2007) ou travaillant (Seward *et al.*, 1995). Pour cela, le cœur des animaux est prélevé et monté sur un système de perfusion à flux constant ou à pression constante. Par ailleurs, l'influence des facteurs circulants tels que les catécholamines est supprimée. Grâce au capteur de pression introduit dans le VG, il est possible d'évaluer des indices de fonction comme la pression développée ( $P_{dev}$ ) et des indices de fonction contractile (*i.e.*  $dP/dt_{max}$ ) et relaxante (*i.e.*  $dP/dt_{min}$ ) dans des conditions standardisées de FC et de charge cardiaque. Dans de telles conditions, la  $P_{dev}$  et la contractilité myocardique du VG sont diminuées après des exercices de nage (Venditti *et al.*, 2001) et de course de durée modérée (Wonders *et al.*, 2007) chez le rat. Cette dernière étude a également démontré la persistance de la baisse de fonction du VG 48 heures après la course. Ces résultats soulignent la baisse transitoire de la fonction intrinsèque du myocarde chez l'animal après un EPP. Néanmoins, Seward *et al.* (1995) n'ont montré aucune diminution des

paramètres fonctionnels après une course prolongée sur tapis roulant chez le rat.

Bien que l'intérêt majeur de l'évaluation de la fonction cardiaque *ex vivo* par rapport à l'évaluation *in vivo* soit d'obtenir des indices de fonction myocardique en s'affranchissant des modifications de FC ou des charges cardiaques observées après exercice, elle présente également certaines limites comme le fait que l'on étudie le cœur en dehors de son contexte physiologique. Ce dernier point nous amène à rester prudent quant à l'extrapolation des résultats obtenus.

### 2.2.3. Évaluation *in vitro*

Après avoir fait courir des rats pendant 201 minutes, des auteurs ont isolé des muscles *trabeculae carnae* (comprenant le muscle papillaire) dans un liquide physiologique à 30 °C dans lequel les muscles étaient stimulés électriquement (Maher *et al.*, 1972). Les auteurs ont ainsi démontré une diminution du pic de tension isométrique et une diminution de la vitesse de raccourcissement des muscles isolés après l'effort. D'après cette étude, il semblerait que la fatigue cardiaque s'exprime également au niveau cellulaire. Ce résultat montre tout l'intérêt des évaluations *in vitro* qui permettent l'investigation du fonctionnement cellulaire du myocarde et l'exploration des mécanismes sous-jacents des dysfonctions cardiaques induites par un EPP.

**Bilan : Les études conduites chez l'animal confirment l'existence de dysfonctions cardiaques transitoires induites par un EPP. Les études ayant évalué la fonction cardiaque *ex vivo* dans des conditions standardisées de FC et de charge cardiaque suggèrent également des atteintes intrinsèques du myocarde à la suite d'un EPP.**

### **3. Mécanismes physiologiques potentiellement responsables de la fatigue cardiaque induite par un exercice physique prolongé**

Bien qu'il y ait un consensus dans la littérature par rapport à la baisse de fonction cardiaque à la suite d'un EPP, l'explication de ce phénomène reste à ce jour mal connue et les informations existantes à ce sujet trop descriptives. Les premières études menées chez l'animal ont analysé l'effet d'un EPP sur l'ultrastructure myocardique et ont démontré des lésions réversibles après l'effort (King & Gollnick, 1970; Banister *et al.*, 1971). Puis, d'autres travaux se sont intéressés aux effets d'un EPP sur la voie  $\beta$ -adrénergique, l'homéostasie calcique et l'implication de ce type d'exercice dans la production du stress oxydant au niveau myocardique. Récemment, une revue de la littérature s'est attachée à synthétiser l'ensemble des travaux fondamentaux et cliniques ayant pour objectif d'appréhender les mécanismes physiologiques sous-jacents à la fatigue cardiaque induite par un EPP. Dans cette revue, Scott et Warburton (2008) ont détaillé différents mécanismes potentiellement impliqués dans la baisse des fonctions systolique et diastolique. Nous allons, dans cette section, décrire les mécanismes majeurs potentiellement responsables de la fatigue cardiaque.

#### 3.1. Altération de l'ultrastructure myocardique

##### 3.1.1. Généralités

Le myocarde est constitué de cardiomyocytes en forme de cylindre de 100  $\mu\text{m}$  de long et de 50  $\mu\text{m}$  de large environ. Ces derniers sont composés de sarcomères, unités contractiles

contenant les myofilaments (*i.e.* actine/myosine) et possèdent des mitochondries plus volumineuses que celles contenues dans les cellules musculaires striées squelettiques (cf. *Figure 17*). Les extrémités des cellules myocardiques présentent des bifurcations, grâce auxquelles elles entrent en connexion avec les cellules adjacentes pour former un réseau tridimensionnel complexe. Mis bout à bout l'ensemble des cardiomyocytes forme des myofibrilles et plusieurs myofibrilles forment des fibres myocardiques qui vont assurer la fonction de pompe du cœur.

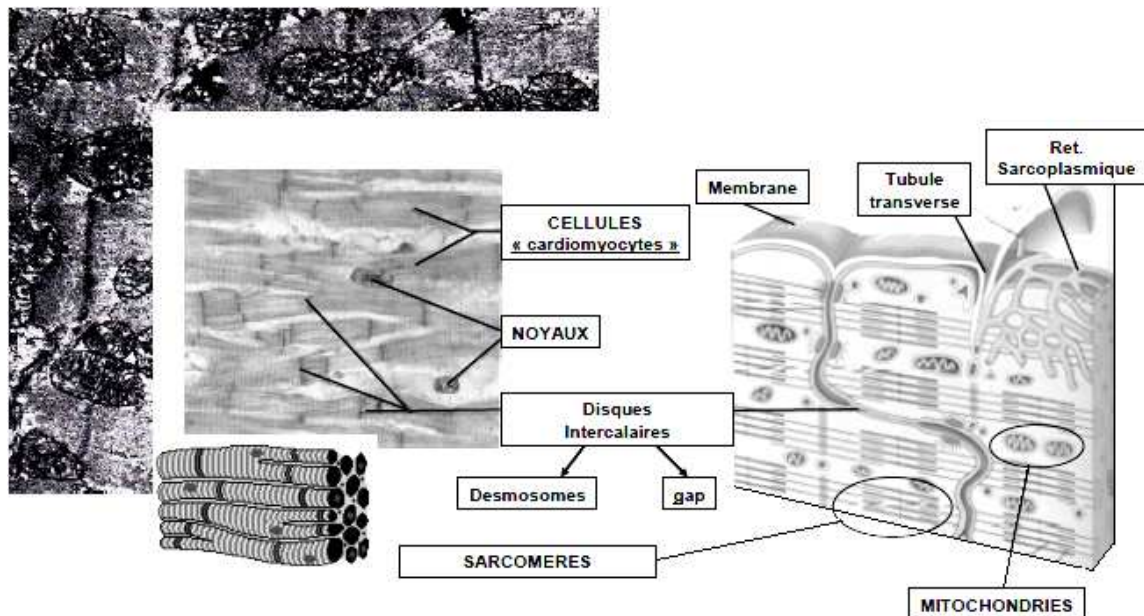
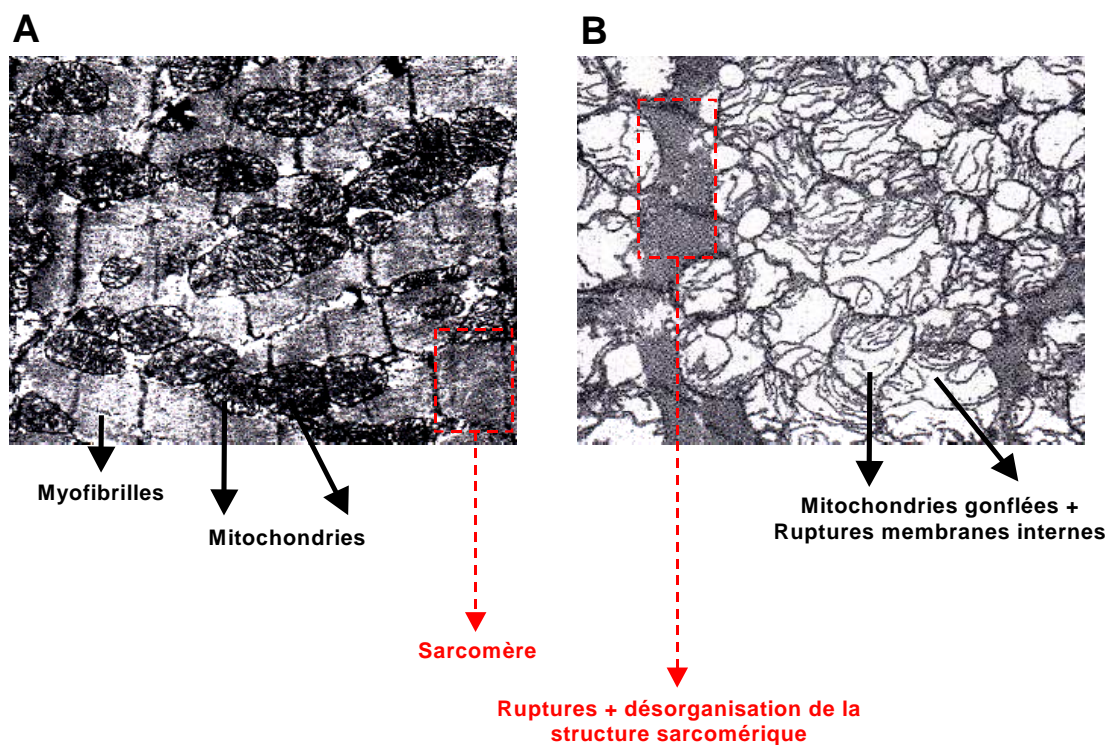


Figure 17 : Illustration de l'ultrastructure du myocarde.

### 3.1.2. Implication dans la fatigue cardiaque induite par un EPP

Les études pionnières se sont intéressées à l'analyse structurale du myocarde grâce à l'utilisation de la microscopie électronique (Laguens *et al.*, 1966; Laguens & Gomez-Dumm, 1967; Pelosi & Agliati, 1968; King & Gollnick, 1970; Banister *et al.*, 1971; Maher *et al.*, 1972; Belcastro *et al.*, 1988). Ces travaux ont majoritairement démontré des modifications de l'ultrastructure myocardique après un EPP (cf. *Tableau 10*). En effet, il a été largement démontré qu'un EPP entraîne des ruptures des membranes interne et externe des mitochondries (King & Gollnick, 1970; Banister *et al.*, 1971), un gonflement de celles-ci et une augmentation de leur masse chez le rat (Laguens & Gomez-Dumm, 1967; Pelosi & Agliati, 1968) et le chien (Laguens *et al.*, 1966) ainsi que des ruptures et des expansions des sarcomères chez le rat (King & Gollnick, 1970; Belcastro *et al.*, 1988) (cf. *Figure 18*).<sup>7</sup>



**Figure 18 : Tissue myocardique de VG de rat vues au microscope électronique.**

Ultrastructure myocardique avant l'EPP (A) et après l'EPP (B). X 10600. Images tirées de King et Gollnick 1970.

Toutefois, d'autres auteurs n'ont pas observé de dommages ultrastructuraux après un EPP (Maher *et al.*, 1972). Les auteurs n'ont, en effet, relevé aucun changement au niveau des muscles *trabeculae carnae* de VG de rat après une course prolongée sur tapis roulant. Plus récemment des études menées chez le rat ont montré une augmentation de la concentration de troponines cardiaques T dans le sérum (Nie *et al.*, 2010) et dans le tissu myocardique (Chen *et al.*, 2000a) après des exercices de nage prolongés. Après ce type d'EPP, une étude a également montré des pertes de créatine kinase myocardique au niveau du VG et du VD de rat (Chen *et al.*, 2000b). Ainsi, en plus des désordres ultrastructuraux, un EPP engendre également des dommages cellulaires myocardiques.



---

 Études analysant l'ultrastructure cardiaque et les dommages cellulaires myocardiques chez l'animal à la suite d'un EPP
 

---

Auteurs	Année	Animal	Type d'exercice	Résultats importants de l'étude
Nie	2010	Rat	180' nage (avec poids: 5% masse corporelle)	Augmentation concentration de cTnT associée à une augmentation concentration de MDA dans sérum
Chen	2000	Rat	210' et 300' nage (avec poids: 8% masse corporelle)	Augmentation proportionnelle concentration cTnT dans sérum et tissu myocardique avec durée exercice Concentration cTnT redevient normale 24h après effort
Chen	2000	Rat	210' nage (avec poids: 8% masse corporelle)	Perte de CK-MB au niveau du VG (perte max (20%): 24h post-exercice) et VD (perte max (39%): 48h post-exercice)
Belcastro	1988	Rat	60' course (tapis roulant: 25m/min, 8% pente)	Ruptures étendues des sarcomères au niveau du tissu myocardique post-effort
Maher	1972	Rat	201' course (tapis roulant: 30 m/min, 12,5% pente)	Diminution de la réponse à l'adrénaline des muscles <i>trabeculae carnae</i> du VG ( ~papillaire) après effort Pas de dommages structuraux trabéculaires
Banister	1971	Rat	40'-60' course (tapis roulant: 13,5- 40,5 m/min, 0% pente)	Ruptures des membranes mitochondriales internes/externes Dommages complètement réversés 24h post-exercice
King	1970	Rat	58' nage et 105' course (roue: 26,8-53,6 m/min)	Gonflement des mitochondries, rupture de la membrane interne mitochondriale, expansion du RS Dommages complètement réversés 2h (nage) et 24h (course) post-exercice
Pelosi	1968	Rat	480' nage	Gonflement et élargissement des mitochondries dans tissu myocardique
Laugens et Gomez-Dumm	1967	Rat	30'-120' nage	Augmentation masse des mitochondries et présence d'invaginations mitochondriales dans tissu myocardique à partir de 90' de nage
Laugens	1966	Chien	Nage	Augmentation masse des mitochondries dans tissu myocardique

---

**Tableau 10 : Synthèse des études de l'ultrastructure cardiaque et des dommages cellulaires myocardiques menées chez l'animal après un EPP.**

VG = ventricule gauche, VD = ventricule droit, RS = réticulum sarcoplasmique, cTnT = troponine cardiaque T, CK-MB = créatine kinase trouvée en majorité dans le tissu myocardique, MDA = malondialdéhyde. Références bibliographiques du *Tableau 10* : (Nie *et al.*, 2010; Laugens *et al.*, 1966; Laugens & Gomez-Dumm, 1967; Pelosi & Agliati, 1968; King & Gollnick, 1970; Banister *et al.*, 1971; Maher *et al.*, 1972; Belcastro *et al.*, 1988; Chen *et al.*, 2000a; Chen *et al.*, 2000b).

## 3.2. Désensibilisation de la voie $\beta$ -adrénergique

### 3.2.1. Généralités

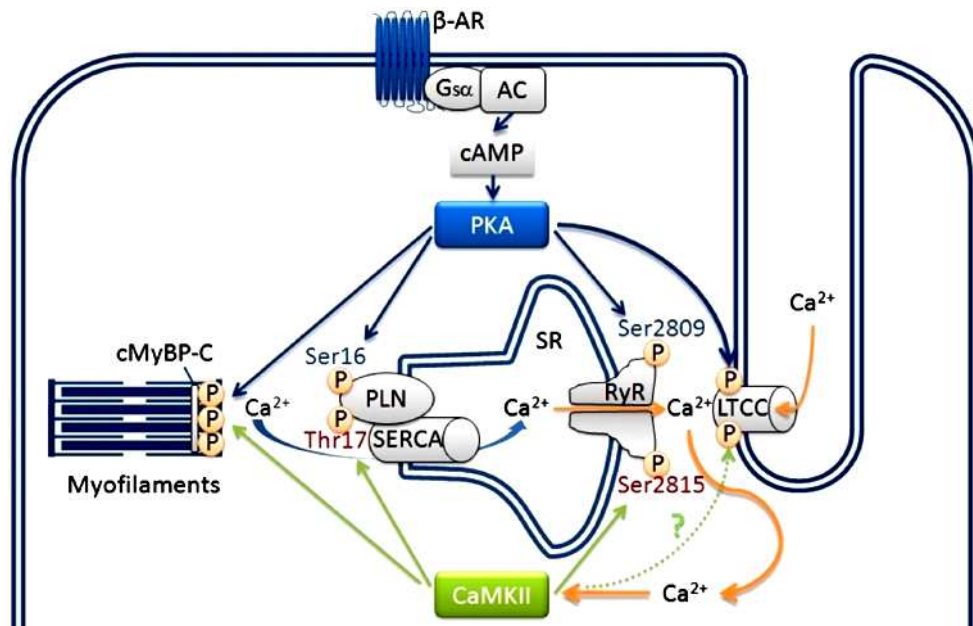
La fonction cardiaque est contrôlée par le système nerveux autonome composé des systèmes nerveux sympathique (cardio-accélérateur) et parasympathique (cardio-modérateur). Le système sympathique permet la régulation du fonctionnement cardiaque suite à un stress aigu (*e.g.* exercice physique) ou chronique. L'élément important du système sympathique est une chaîne ganglionnaire paire située dans la cavité du tronc, de chaque côté de la colonne vertébrale. Les centres sympathiques s'étendent des vertèbres cervicales n°8 à lombaire n°2. Le neurone pré-ganglionnaire sympathique rejoint le ganglion de la chaîne sympathique par un rameau communicant blanc myélinisé. Ce neurone est court et cholinergique. Le neurone post-ganglionnaire fait suite au neurone pré-ganglionnaire par l'intermédiaire d'une synapse au niveau d'un ganglion de la chaîne ganglionnaire. Le neurone post-ganglionnaire s'engage dans un rameau communicant gris amyélinique qui lui permet d'atteindre notamment le cœur. Ainsi, par l'intermédiaire de ce neurone, les catécholamines (*i.e.* adrénaline et noradrénaline) vont pouvoir être secrétées par la médullosurrénale en situation de stress. Ces substances chimiques vont alors agir au niveau du cœur grâce à leur fixation sur des récepteurs membranaires spécifiques, les adrénorécepteurs ou récepteurs adrénérgiques. Il existe trois grands types de récepteurs : les récepteurs  $\alpha$ -adrénérgiques ( $\alpha$ -1<sub>A</sub>,  $\alpha$ -1<sub>B</sub>,  $\alpha$ -1<sub>D</sub> et  $\alpha$ -2<sub>A</sub>,  $\alpha$ -2<sub>B</sub>,  $\alpha$ -2<sub>C</sub>) et les récepteurs  $\beta$ -adrénérgiques ( $\beta$ <sub>1</sub>,  $\beta$ <sub>2</sub>,  $\beta$ <sub>3</sub>). La forme  $\beta$ <sub>1</sub> est la forme la plus abondante dans le tissu myocardique humain (Rockman *et al.*, 2002) et représente près de 80% du nombre total de récepteurs  $\beta$ -adrénérgiques. De plus, le rapport entre récepteurs  $\beta$  et  $\alpha$  est de 10 pour 1 montrant clairement la prédominance de ce type de récepteur dans le

myocarde.

Une fois que les catécholamines se sont fixées sur leurs récepteurs spécifiques il se produit une réaction en chaîne au sein du cardiomyocyte (cf. *Figure 19*). L'activation du récepteur  $\beta 1$  par exemple, active l'adénylate cyclase *via* la protéine G simulatrice. La synthèse d'adénosine monophosphate cyclique à partir d'ATP active la protéine kinase A qui phosphoryle différentes cibles intracellulaires comme les récepteurs à dihydropyridine, les récepteurs à ryanodine-2 (RyR-2), le phospholamban, les canaux potassique et calcique et les cTnI aboutissant à la contraction des cardiomyocytes par glissement des filaments d'actine sur la myosine grâce à l'augmentation du  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulaire. La relaxation des cardiomyocytes se produit ensuite par diminution de la concentration calcique intracellulaire. L' adénosine monophosphate cyclique agit également directement sur le cœur par une liaison directe sur des protéines telles que les canaux ioniques de type HCN ou « Hyperpolarisation-activated Cyclic-Nucleotid modulated Cation Non-selective Channel » qui génèrent un courant cationique entrant dépolarisant qui augmente le rythme cardiaque.

**Bilan : Les effets des catécholamines sur la fonction cardiaque sont :**

- Inotrope positif : augmentation de la force de contraction.**
- Lusitrope positif : augmentation de la relaxation.**
- Chronotrope positif : augmentation de la fréquence cardiaque.**



**Figure 19 : Voie de signalisation β-adrénergique cardiaque.**

B-AR = récepteur β-adrénergique, Gsα = sous-unité de la protéine Gs, AC = adénylate cyclase, cAMP = adénosine monophosphate cyclique, PKA = protéine kinase A, cMyBP-C = protéine C liant la myosine, PLN = phospholamban, SERCa<sup>2+</sup>-ATPase = pompe calcique ATPase du réticulum sarcoplasmique, SR = réticulum sarcoplasmique, RyR = récepteur à ryanodine, LTCC = canal calcique de type L, CamKII = kinase II dépendante du Ca<sup>2+</sup> et de la calmoduline. Figure adaptée de Grimm et Brown (2010) (Grimm & Brown, 2010).

### 3.2.2. Implication dans la fatigue cardiaque induite par un EPP

La désensibilisation de la voie β-adrénergique se produit lorsque les récepteurs β<sub>1</sub> du cœur sont stimulés de manière importante et prolongée par les catécholamines circulantes (Vatner *et al.*, 1989). Ce phénomène peut entraîner une insuffisance cardiaque chronique (Bristow *et al.*, 1986) et représente le mécanisme qui a reçu à ce jour le plus d'attention dans le communauté scientifique pour expliquer les dysfonctions transitoires observées post-EPP.

Les premières études centrées sur la voie β-adrénergique post-EPP ont été menées chez l'animal (cf. *Tableau 11*). Les premiers travaux ont été trouvés chez le rat après 201 minutes de course (Maher *et al.*, 1972). Les auteurs ont démontré au niveau des muscles *trabucalae carnae* isolés du VG que la réponse en tension de ces muscles à l'adrénaline était

diminuée après l'effort. Ces tous premiers résultats suggèrent une altération de la voie  $\beta$ -adrénergique post-EPP au niveau cellulaire. Une autre étude menée chez le chien après 60 minutes de course a démontré que la dose d'isoprotérénol (*i.e.* agoniste  $\beta$ -adrénergique) nécessaire pour augmenter de 25 bpm la FC post-course était augmentée par rapport à la dose nécessaire au repos avec ou sans blocage vagal à l'atropine suggérant une désensibilisation de la voie  $\beta$ -adrénergique (Friedman *et al.*, 1987). En outre, dans une étude menée chez le rat après une course de 30 minutes sur tapis roulant, les auteurs ont montré une translocation des récepteurs  $\beta$ -adrénergiques de l'espace intracellulaire vers le sarcolemme pour 35 % d'entre eux (Izawa *et al.*, 1989), laissant penser que la voie  $\beta$ -adrénergique serait altérée après l'EPP à cause d'une régulation à la baisse (« down-regulation ») des récepteurs  $\beta$ -adrénergique. De plus, d'autres études ont démontré que le nombre de récepteurs  $\beta$ -adrénergiques au niveau du sarcolemme myocardique était diminué chez des cochons après épuisement (Hammond *et al.*, 1987) et chez des rats non-entraînés en endurance après un exercice prolongé de nage (Werle *et al.*, 1990).

Sur la base de ces résultats, certains auteurs ont suggéré que l'exposition importante et prolongée du cœur des athlètes à des fortes concentrations de catécholamines circulantes au cours d'un EPP soit susceptible engendrer une down-regulation de la réponse des récepteurs  $\beta_1$  diminuant ainsi la contractilité du VG (Vanoverschelde *et al.*, 1991). De manière intéressante, des études cliniques ont suggéré que la concentration élevée de catécholamines circulantes pendant un EPP entraîne une désensibilisation des récepteurs  $\beta$ -adrénergiques caractérisée par une diminution de la réponse de la FC et de la contractilité du VG à la dobutamine (Welsh *et al.*, 2005; Scott *et al.*, 2007) et par une diminution de la réponse de la FC et du débit cardiaque à l'isoprotérénol (Hart *et al.*, 2006). Enfin, une étude récente a montré qu'après 150 minutes de course sur tapis roulant, la réponse à la dobutamine des

déformations globales du VG et du VD évaluées par STE était diminuée (Banks *et al.*, 2010).

Cependant, des études à la fois menées sur des cardiomyocytes isolés (Anwar *et al.*, 2008) et chez l'Homme (Martin *et al.*, 1991) ont montré respectivement aucune implication de la voie  $\beta$ -adrénergique dans la baisse de fonction des cardiomyocytes et aucune altération de la réponse des récepteurs  $\beta$ -adrénergiques à la suite d'un stress  $\beta$ -adrénergique de 24h et d'un exercice épuisant. Ainsi, le fait que l'EPP puisse représenter un stress  $\beta$ -adrénergique susceptible d'induire une désensibilisation des récepteurs  $\beta$ -adrénergiques ne reste pas complètement élucidé à ce jour.

Études de la voie  $\beta$ -adrénergique chez l'animal à la suite d'un EPP

Auteurs	Année	Animal	Type d'exercice	Résultats importants de l'étude
Werle	1990	Rat	90' nage	Baisse capacité de fixation maximal du ligand sur récepteurs $\beta$ -adrénergiques et du nombre de récepteurs au niveau du sarcolemme dans tissu myocardique
Friedman	1987	Chien	60' course (tapis roulant)	Baisse sensibilité chronotrope des récepteurs $\beta$ -adrénergiques du myocarde à l'isoprotérénol avec ou sans blocage vagal (atropine)
Maher	1972	Rat	201' course (tapis roulant: 30 m/min, 12,5% pente)	Diminution de la réponse à l'adrénaline des muscles <i>trabeculae carnae</i> du VG (-papillaire) après effort Pas de dommages structuraux trabéculaires

**Tableau 11 : Synthèse des études de la voie  $\beta$ -adrénergique menées chez l'animal après un EPP.**

VG = ventricule gauche. Références bibliographiques du *Tableau 11* : (Maher *et al.*, 1972; Friedman *et al.*, 1987; Werle *et al.*, 1990).

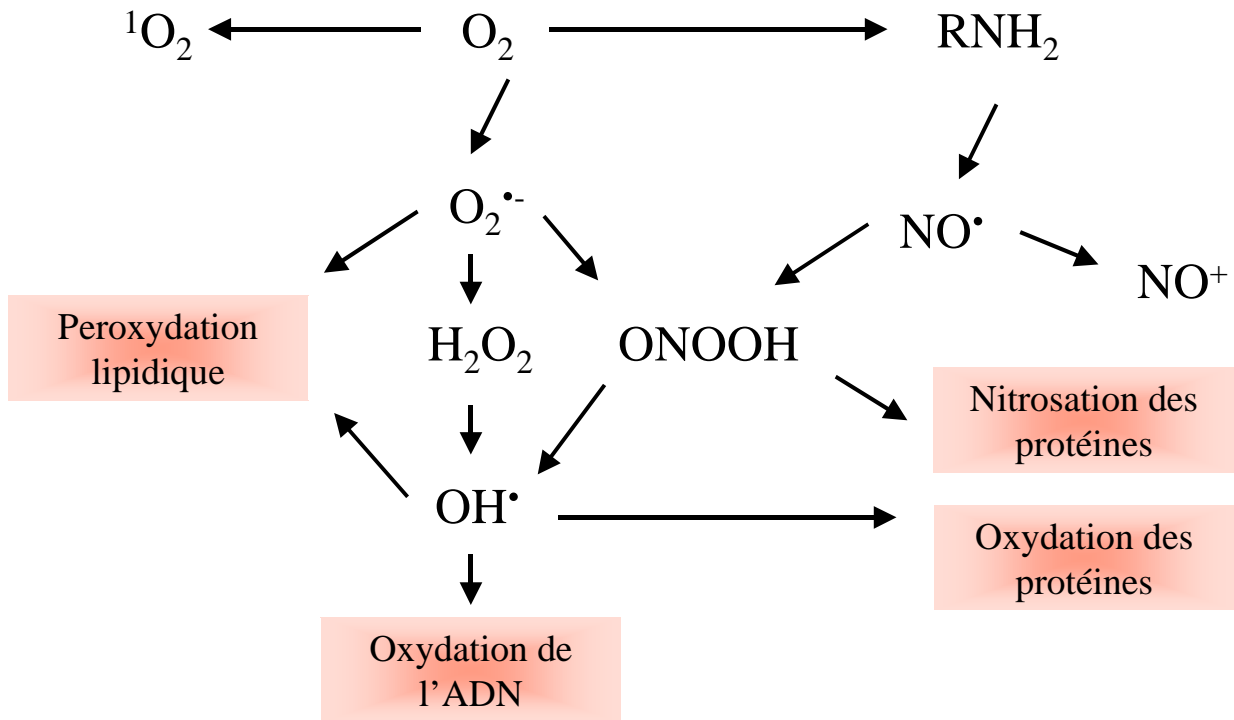
### 3.3. Stress oxydant

#### 3.3.1. Généralités

En condition physiologique, l'oxygène est indispensable à la vie. En condition de stress, l'oxygène peut se révéler délétère en perturbant le statut oxydo-réducteur (redox) du

milieu intracellulaire et favoriser l'augmentation des facteurs pro-oxydants au détriment des facteurs antioxydants. Il se crée alors un déséquilibre favorisant l'oxydation cellulaire que l'on appelle le stress oxydant.

Les facteurs pro-oxydants sont des dérivés de l'oxygène appelés espèces réactives oxygénées (ERO). Ces molécules sont très réactives du fait de la présence d'un électron célibataire non apparié sur leur orbitale externe. Ainsi, les ERO interagissent avec les molécules présentes dans leur espace proche pouvant provoquer des dommages importants. Les ERO généralement produits par le métabolisme cellulaire forment une famille de différents radicaux libres. Parmi les plus importants on retrouve le radical superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), le radical perhydroxyle ( $HO_2$ ), le radical hydroxyle ( $OH^{\cdot}$ ), le radical peroxyde ( $RO_2^{\cdot}$ ) et le radical alkoxyle ( $RO^{\cdot}$ ). Le radical  $O_2^{\cdot-}$  a une demi-vie importante (*i.e.*  $10^{-6}$  s). L' $O_2^{\cdot-}$  est très toxique de part sa grande inertie chimique et cela lui permet de parcourir de grande distance (Pacher *et al.*, 2007) et ainsi d'engendrer des dommages cellulaires et de former d'autres ERO ou réagir avec le monoxyde d'azote pour former des espèces réactives oxygénées azotées (EROA) comme le peroxyde d'azote ( $ONOO^{\cdot}$ ). Ainsi, les ERO et les EROA sont capables d'endommager tous les types de composants cellulaires comme les acides nucléiques (*e.g.* lésion de l'ADN) (Pacher *et al.*, 2007), les protéines (*e.g.* modifications structurales et fonctionnelles) (Kako, 1987) et les lipides membranaires (*e.g.* modifications de perméabilité, inactivation d'enzymes membranaires, peroxydation lipidique) (Misra *et al.*, 2009).

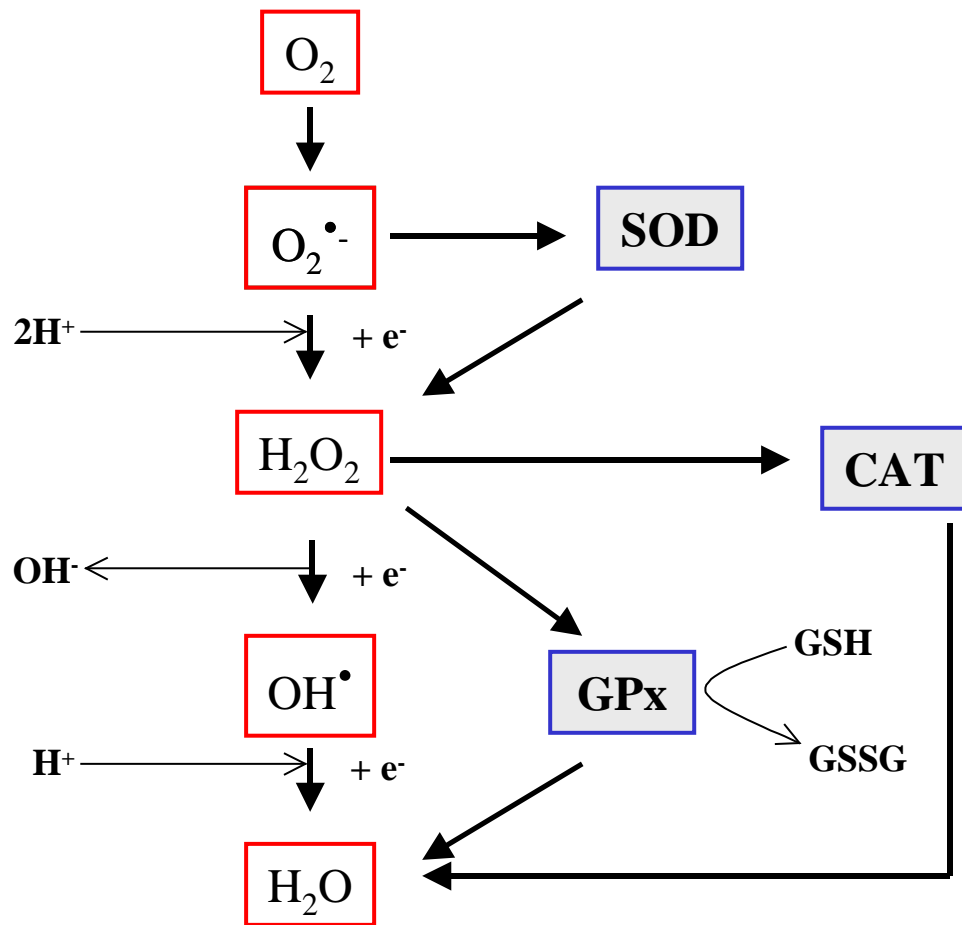


**Figure 20 : Les effets délétères des ERO et EROA.**

$^1O_2$  = oxygène singulet,  $O_2$  = oxygène,  $O_2^{\bullet-}$  = anion superoxyde,  $H_2O_2$  = peroxyde d'hydrogène,  $OH^{\bullet}$  = radical hydroxyl,  $ONOOH$  = peroxynitrite,  $NO^{\bullet}$  = monoxyde d'azote,  $RNH_2$  = fonction amine,  $NO^+$  = ion nitrosonium.

Pour lutter contre ces agressions, l'organisme a développé des systèmes de défense efficaces contre la production d'ERO. En effet, les antioxydants permettent de retarder voir d'arrêter l'oxydation intracellulaire (Halliwell & Gutteridge, 1990). Ils existent deux types d'antioxydants, les antioxydants non enzymatiques liposolubles (*e.g.* vitamines A,E,K) et hydrosolubles (*e.g.* vitamines du groupe B,C) et les antioxydants enzymatiques dont les trois principaux sont la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la catalase.





**Figure 21 : Systèmes enzymatiques antioxydants principaux de l'organisme.**

O<sub>2</sub> = oxygène, O<sub>2</sub><sup>•-</sup> = anion superoxyde, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = peroxyde d'hydrogène, OH<sup>•</sup> = radical hydroxyl, H<sub>2</sub>O = eau, H<sup>+</sup> = ion hydrogène, e<sup>-</sup> = électron, SOD = superoxyde dismutase, CAT = catalase, GPx = glutathion peroxydase, GSH = glutathion réduit, GSSG = glutathion oxydé.

### 3.3.2. Implication dans la fatigue cardiaque induite par un EPP

Les ERO jouent un rôle physiologique dans des conditions basales, notamment *via* l'activation de voies de signalisation (Okabe *et al.*, 2000). Dans des conditions de stress comme l'exercice physique, la production d'ERO peut devenir délétère. Les premiers travaux réalisés sur l'implication de l'exercice dans la production d'un stress oxydant ont été réalisés majoritairement chez l'animal sur le muscle strié squelettique (Quintanilha & Packer, 1983;

Jackson *et al.*, 1985; Alessio *et al.*, 1988) mais également chez l'Homme (Dillard *et al.*, 1978). Ces travaux ont mis en évidence qu'une augmentation de la concentration en oxygène dans l'organisme engendre une augmentation concomitante de la production de radicaux libres (Jenkins, 1988; Sen, 1995). Cette production massive de radicaux libres va être responsable d'un stress oxydant proportionnel à l'intensité de l'exercice (Alessio, 1993) susceptible d'engendrer des dommages au niveau du muscle strié squelettique.

Il apparaît donc intéressant d'explorer l'effet d'un exercice aigu sur la production de stress oxydant au niveau cardiaque. Les mitochondries, la xanthine oxydase (Berry & Hare, 2004; Giordano, 2005) et la nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) oxydase (Nox) (Reid *et al.*, 1992; Griendling *et al.*, 2000; Murdoch *et al.*, 2006) représentent des sources potentielles de production d'ERO au niveau cardiaque. Toutes ces enzymes produisent des  $O_2^-$  susceptibles d'engendrer des dommages cellulaires dans différents tissus dont le tissu cardiaque (Perez *et al.*, 2003). De manière intéressante, des études menées chez le rat, ont démontré une augmentation de la production d'ERO dans le tissu myocardique (Seward *et al.*, 1995; Lin *et al.*, 2006; Wonders *et al.*, 2007) et une diminution de 50 % des capacités antioxydantes du myocarde (Venditti *et al.*, 1996) après des exercices épuisants de longue durée (cf. *Tableau 12*).

De ce fait, des études se sont intéressées au rôle potentiel du stress oxydant sur la baisse de fonction cardiaque. Des travaux menés chez le chien (Bolli *et al.*, 1989) et le rat (Venditti *et al.*, 2001) ont respectivement démontré une baisse de la fonction cardiaque post-ischémique directement liée aux ERO et une baisse proportionnelle de la pression développée et de la contractilité du VG avec l'augmentation de  $H_2O_2$  sur un modèle de cœur isolé perfusé de Langendorff. Cependant bien qu'il soit admis qu'un EPP engendre une augmentation de la production d'ERO dans le tissu myocardique, les résultats concernant le lien direct entre

stress oxydant et baisse de fonction sont contradictoires. En effet, deux études menées chez le rat après une course épuisante de longue durée sur tapis roulant, ont montré la présence d'un stress oxydant dans le tissu myocardique associé (Wonders *et al.*, 2007) ou non (Seward *et al.*, 1995) à une baisse de la fonction cardiaque évaluée *ex vivo*.

Bien qu'il existe plusieurs sources de production d'ERO, un certain nombre de travaux soulignent l'implication majeure de la Nox dans la production de stress oxydant au niveau cardiaque (Reid *et al.*, 1992; Griendling *et al.*, 2000; Murdoch *et al.*, 2006). Par ailleurs, son activité dans le tissu cardiaque est augmentée en situation d'exercice ce qui peut favoriser la production d'un stress oxydant (Sanchez *et al.*, 2008). Cependant, aucune information n'existe à ce jour sur un éventuel lien entre la production de stress oxydant par la Nox et la baisse de fonction cardiaque à la suite d'un EPP.

Études du stress oxydant au niveau cardiaque chez l'animal à la suite d'un EPP

Auteurs	Année	Animal	Type d'exercice	Résultats importants de l'étude
Wonders	2007	Rat	60' course (tapis roulant: 25m/min, 5% pente)	Augmentation concentration de MDA dans tissu myocardique jusqu'à 48h post-exercice Diminution potentiel antioxydant 24h et 48h post-exercice
Lin	2006	Rat	81' course (tapis roulant: 30m/min, 10% pente)	Augmentation concentration de MDA et diminution du rapport GSH/GSSG dans tissu myocardique post-exercice
Gul	2006	Rat	> 95' course (tapis roulant: 32 m/min, 10% pente)	Pas d'augmentation concentration de MDA et diminution activité des enzymes antioxydantes (glutathion peroxydase et superoxyde dismutase) dans tissu myocardique post-course
Venditti	2001	Rat	300' et 480' nage (avec poids: 2% masse corporelle)	Diminution proportionnelle de Pdev et dP/dt <sub>max</sub> du VG avec augmentation H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Vitamine E prévient baisse de fonction (juste pour nage de 480')
Venditti	1996	Rat	210' nage	Diminution des capacités anti-oxydantes du myocarde
Seward	1995	Rat	75' course (tapis roulant: 18 m/min, 0% pente)	Diminution du glutathion sulfhydryl non protéique dans tissu myocardique (stress oxydant très mineur) post-exercice

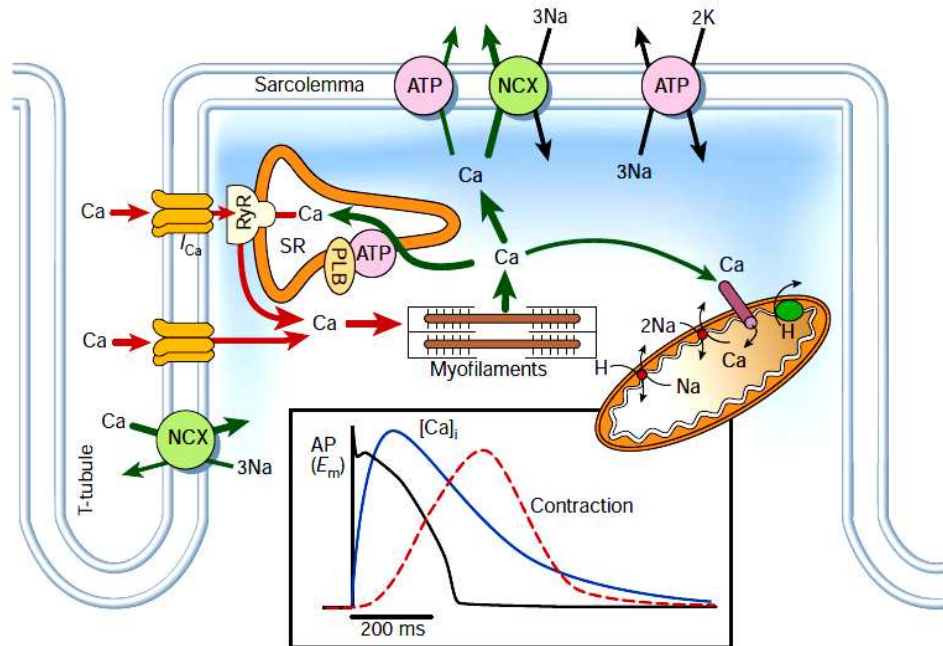
**Tableau 12 : Synthèse des études du stress oxydant au niveau cardiaque menées chez l'animal après un EPP.**

VG = ventricule gauche, Pdev = pression développée, dP/dt<sub>max</sub> = indice de contractilité, MDA = malondialdéhyde (indice de peroxydation lipidique), GSH/GSSG = rapport glutathion réduit / glutathion oxydé (indice d'oxydation intracellulaire), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = peroxyde d'hydrogène. Références bibliographiques du Tableau 12 : (Seward *et al.*, 1995; Venditti *et al.*, 1996; Venditti *et al.*, 2001; Gul *et al.*, 2006; Lin *et al.*, 2006; Wonders *et al.*, 2007).

### 3.4. Altération de l'homéostasie calcique cardiaque

#### 3.4.1. Définition de l'homéostasie calcique

Le maintien d'une concentration intracellulaire de  $\text{Ca}^{2+}$  représente un élément clé du bon fonctionnement cardiaque. Cet équilibre ionique est maintenu grâce au fonctionnement de pompes et de transporteurs membranaires et de certains organelles intracellulaires (Berridge *et al.*, 2003). Au cours du couplage excitation-contraction, après l'arrivée du potentiel d'action, l'entrée du  $\text{Ca}^{2+}$  à travers les canaux calciques type-L sensibles à la dihydropyridine, stimule la libération de  $\text{Ca}^{2+}$  au niveau des RyR-2 du réticulum sarcoplasmique à l'origine de la contraction cellulaire. Ce mécanisme est plus connu sous le nom de « calcium induced-calcium released » (Fabiato, 1983). À la suite de la contraction, la baisse de la concentration en  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulaire permet la relaxation des cardiomyocytes. Le  $\text{Ca}^{2+}$  est repompé par le réticulum sarcoplasmique suite à l'activation des pompes SERCA-2a. Il est également extrait du milieu intracellulaire grâce à l'activation de l'échangeur sodium / calcium ( $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$  ou NCX), de canaux  $\text{Ca}^{2+}$  ATPase du sarcolemme et de l'uniport mitochondrial (Bers, 2002; Bers & Weber, 2002; Zhou & Bers, 2002).



**Figure 22 : Homéostasie calcique cardiaque.**

ATP = adénosine triphosphate, AP = potentiel d'action, Ca = ion calcium,  $[Ca]_i$  = calcium intracellulaire,  $E_m$  = potentiel de membrane, H = ion hydrogène, Na = ion sodium, NCX = échangeur  $Na^+ / Ca^{2+}$ , PLB = phospholamban, RyR = récepteur à ryanodine, SR = réticulum sarcoplasmique. Les flèches rouges représentent les entrées du calcium dans la cellule pour permettre la contraction. Les flèches vertes représentent les sorties du calcium pour diminuer la concentration calcique intracellulaire permettant la relaxation du cardiomyocyte. Les courbes du graphique représentent l'évolution du potentiel de membrane cellulaire (noire), de la concentration intracellulaire de  $Ca^{2+}$  (bleue) et de la contraction du cardiomyocyte (rouge pointillée) au cours du temps. D'après Bers et al (2002).

### 3.4.2. Implication dans la fatigue cardiaque induite d'exercice

Comme nous l'avons dit précédemment, le stress oxydant engendre des dégradations du tissu cardiaque à la suite d'un EPP. Par ailleurs, il a été démontré que les protéines contractiles étaient dégradées par la production d' $O_2^-$  au cours d'une ischémie-reperfusion et que ces dégradations étaient responsables d'une baisse de la sensibilité calcique des protéines contractiles cardiaques (MacFarlane & Miller, 1992; Bolli & Marban, 1999). De plus, les  $O_2^-$  peuvent engendrer une augmentation de la probabilité d'ouverture des RyR-2 (Kawakami & Okabe, 1998) et la diminution de la libération du calcium par le réticulum sarcoplasmique

(Zima *et al.*, 2004). Ainsi, même si ces résultats n'ont pas été démontrés à la suite d'un EPP, il semble plausible qu'une altération de l'homéostasie calcique cardiaque due à un stress oxydant induit par un EPP puisse engendrer des dysfonctions cardiaques.

De manière intéressante, dans une étude menée chez le rat, Pierce *et al* (1984) ont montré une diminution du repompage du  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulaire par le réticulum sarcoplasmique après des exercices prolongés de course et de nage (Pierce *et al.*, 1984) (cf. *Tableau 13*). Cette baisse du repompage du  $\text{Ca}^{2+}$  peut entraîner une accumulation calcique intracellulaire qui a été largement reportée comme étant un facteur déclencheur important de mort cellulaire, d'arythmies et d'altérations fonctionnelles cardiaques (Murphy *et al.*, 1987; Kitakaze *et al.*, 1988; Bolli, 1990; Bolli & Marban, 1999). Il est important de noter que la surcharge calcique intracellulaire peut entraîner une augmentation du captage du calcium par les mitochondries présentes dans les cardiomyocytes afin de maintenir l'homéostasie calcique cardiaque (Gunter *et al.*, 1994). En condition basale, le calcium capté par les mitochondries va augmenter la production d'ATP en modulant la phosphorylation oxydative (Maack & O'Rourke, 2007). En revanche, lorsque la charge calcique intracellulaire est trop importante, il se produit une surcharge calcique intra-mitochondriale qui va notamment engendrer l'ouverture du pore de transition de perméabilité mitochondrial (MPTP). Ce phénomène va permettre la libération du cytochrome C et entraîner l'apoptose par l'activation de caspases (Ichas & Mazat, 1998). L'ouverture du MPTP engendre également une augmentation de la perméabilité de la membrane interne mitochondriale entraînant un gonflement de la mitochondrie voir des ruptures membranaires (Lemasters *et al.*, 2009) comme nous l'avons mentionné précédemment. Cependant, aucune étude à ce jour n'a investigué ces mécanismes à la suite d'un EPP. Toutefois, Delgado *et al* (1999) ont montré qu'une course épuisante ne modifiait pas la densité des canaux calciques impliqués dans le couplage excitation-contraction du

muscle cardiaque et n'engendrait pas de baisse de l'activité des pompes SERCA-2a (Delgado *et al.*, 1999).

Enfin, certains auteurs ont proposé l'hypothèse selon laquelle, l'altération de l'homéostasie se produirait à cause du phénomène de sidération myocardique induite par l'EPP (Scott & Warburton, 2008). Selon ces auteurs, cet état transitoire de dysfonction mécanique du myocarde engendrerait une surcharge calcique qui serait en partie responsable des dysfonctions cardiaques observées après un EPP. Cependant, les seules informations sur la sidération myocardique et les mécanismes responsables de celle-ci restent hypothétiques (Bolli & Marban, 1999) tout comme son implication dans la fatigue cardiaque induite par un EPP.

Études de l'homéostasie cardiaque chez l'animal à la suite d'un EPP

Auteurs	Année	Animal	Type d'exercice	Résultats importants de l'étude
Delgado	1999	Rat	84' course (tapis roulant: 30 m/min, 0% pente)	Pas d'altération des RyR-2, pas de modification de la densité des canaux calciques et pas de diminution de l'activité des pompes calciques ATPase
Pierce	1984	Rat	120 'nage	Diminution transport du Ca <sup>2+</sup> au niveau du RS et de la membrane mitochondriale Déplétion stock glycogène myocardique

**Tableau 13 : Synthèse des études de l'homéostasie cardiaque menées chez l'animal après un EPP.**

RyR = récepteur à ryanodine, RS = réticulum sarcoplasmique. Références bibliographiques du *Tableau 13* : (Pierce *et al.*, 1984; Delgado *et al.*, 1999).

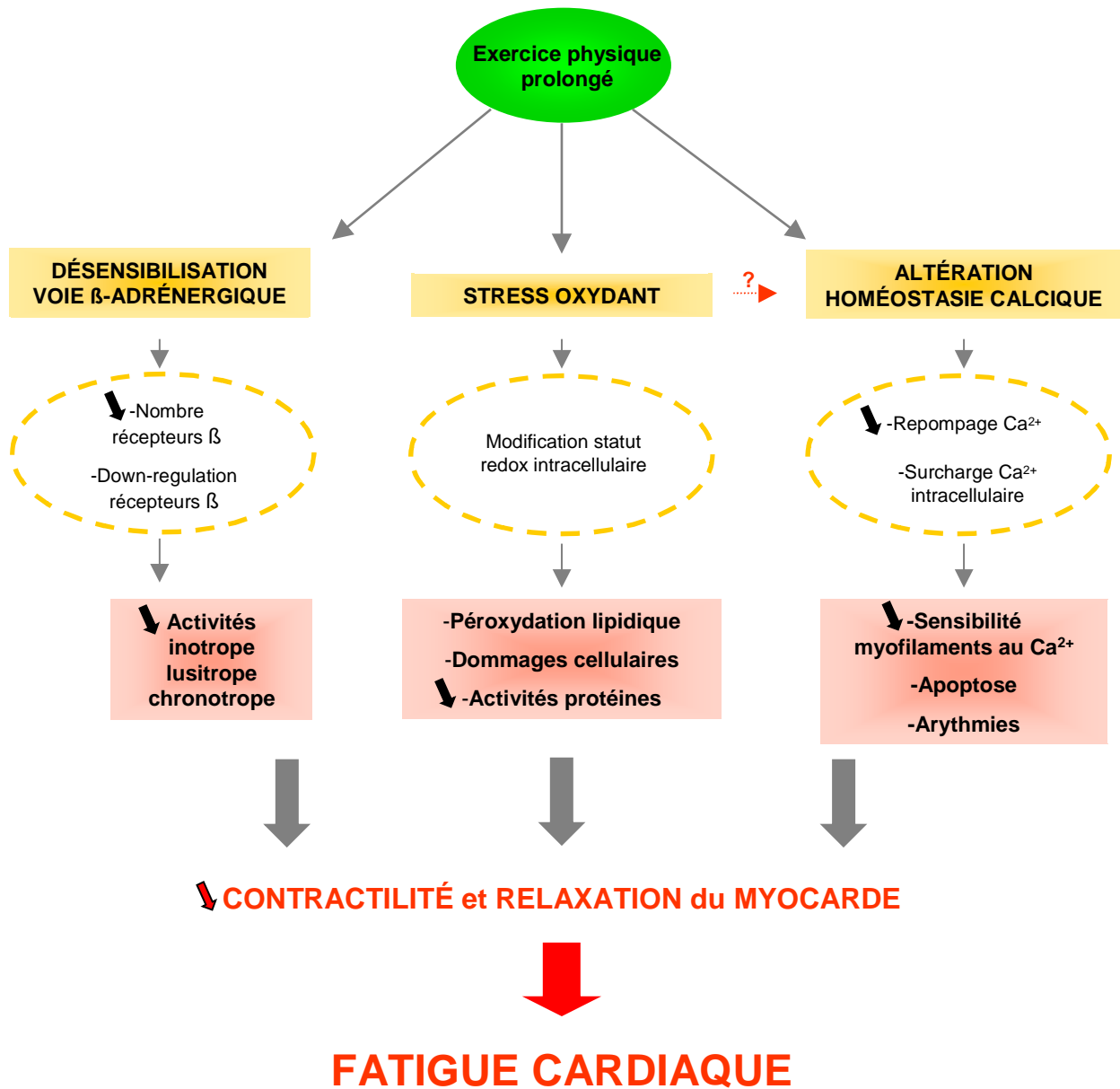


Figure 23 : Schéma récapitulatif des mécanismes physiologiques majeurs potentiellement impliqués dans la fatigue cardiaque induite par un EPP.



#### 4. Synthèse et présentation de l'étude fondamentale

Les études fondamentales ont permis de mettre en évidence qu'un EPP entraînaient des dysfonctions cardiaques transitoires chez l'animal identiques à celles retrouvées chez l'Homme après des marathons ou des triatlons longue distance. L'utilisation de modèles animaux spécifiques avec différents types de protocole d'exercice, permet l'étude des mécanismes physiologiques sous-jacents à la fatigue cardiaque. En effet, les études *ex vivo* et *in vitro* de la fonction cardiaque permettent respectivement l'évaluation des atteintes myocardiques et l'exploration des mécanismes cellulaires impliqués dans l'apparition des dysfonctions cardiaques induites par un EPP.

Les études menées chez l'animal ont mis en évidence différents mécanismes physiologiques potentiellement impliqués dans la fatigue cardiaque induite par un EPP en plus des désordres et dégradations de l'ultrastructure myocardique. La désensibilisation de la voie  $\beta$ -adrénergique, le stress oxydant et l'altération de l'homéostasie calcique représentent les trois hypothèses majeures explicatives de la fatigue cardiaque induite d'EPP dans la littérature actuelle. Cependant, malgré certaines avancées dans la compréhension des dysfonctions cardiaques, aucun lien n'a été clairement établi à ce jour entre ces différents mécanismes et les dysfonctions cardiaques observées après un EPP.

Dans ce contexte, **l'objectif de l'étude n°3 de ce travail de doctorat a été d'évaluer l'implication de la voie  $\beta$ -adrénergique dans les dysfonctions cardiaques induites par un EPP.** Étant donné que de plus en plus de travaux soulignent l'implication majeure de la Nox dans la production de stress oxydant au niveau cardiaque (Reid *et al.*, 1992; Griendling *et al.*, 2000; Murdoch *et al.*, 2006) et l'augmentation de son activité en situation d'exercice (Sanchez *et al.*, 2008), **nous avons évalué plus spécifiquement l'implication du stress oxydant produit par cette enzyme dans les dysfonctions cardiaques post-EPP.** Au cours des expérimentations, différents groupes de rats ont été utilisés, des rats contrôles et des coureurs (*i.e.* 4 h de course sur tapis roulant) pour l'étude de la voie  $\beta$ -adrénergique et des groupes de rats contrôles et coureurs traités ou non à l'apocynine (= inhibiteur spécifique de la Nox) pour l'étude du stress oxydant. Pour confirmer la présence d'une fatigue cardiaque nous avons mesuré la fonction cardiaque *in vivo* et *ex vivo* après la course. **Nous avons émis l'hypothèse que la désensibilisation de la voie  $\beta$ -adrénergique et le stress oxydant engendré par la production d'ERO *via* la Nox étaient impliqués dans les dysfonctions cardiaques induites par un EPP chez le rat.**

## **Matériels et méthodes**

心

Ce travail de doctorat s'appuie sur une approche translationnelle. Cette approche est présentée en *Figure 24*. Trois études ont été réalisées au cours de ce travail de doctorat au sein desquelles la fonction cardiaque a été évaluée à la suite de différents types d'EPP.

L'étude n°1 a été réalisée en collaboration avec le Pr. Nicolas Tordi de l'équipe d'accueil 3920 « Physiopathologie cardiovasculaire et prévention » de l'Université de Besançon. L'objectif de cette étude, était d'évaluer par STE la contractilité du myocarde à la suite d'un EPP de durée modérée chez des sujets actifs sains. L'originalité de cette première étude a résidé dans le fait que les évaluations de la fonction cardiaque ont été réalisées dans des conditions standardisées de FC et de charge cardiaque avant et après un EPP de durée modérée.

L'étude n°2 a été réalisée en collaboration avec le Pr. Guillaume Millet de l'équipe d'accueil 4338 « Laboratoire de Physiologie de l'Exercice » de l'Université Jean Monnet de Saint-Etienne et le Dr Jean-Louis Bussière du Club Mont-Blanc Cœur et Sport. L'objectif de cette deuxième étude, a été d'évaluer par STE la fonction du VG et du VD à la suite de l'épreuve The North Face® Ultra Trail du Mont-Blanc® (UTMB®) chez des sujets très entraînés en endurance. L'originalité de cette étude a porté à la fois sur le caractère hors norme de cette épreuve en terme de durée, mais aussi sur l'investigation de la mécanique ventriculaire gauche et droite par STE associée aux dosages biochimiques de biomarqueurs de dommages cellulaires myocardiques et à l'évaluation des volumes sanguin et plasmatique avant et après la course.

L'étude n°3 réalisée en collaboration avec le Pr. Louis Monnier de l'équipe d'accueil 2993 : « Nutrition et Athérogénèse Humaine » de l'Institut Universitaire de Recherche Clinique de Montpellier, le Dr Anne Polge du laboratoire de biochimie du CHU de Nîmes et avec le Pr. Patrice Faure de l'unité INSERM U1040 de la faculté de médecine de Grenoble a

été menée dans les locaux de l'équipe d'accueil 4278 « Pharm-Écologie Cardiovasculaire » de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse. L'objectif de cette troisième étude a été d'évaluer, chez le rat, l'implication de la voie  $\beta$ -adrénergique et du stress oxydant engendré par la production d'ERO *via* la Nox dans les dysfonctions cardiaques induites par un EPP.

Les acquisitions échocardiographiques de repos et d'effort avant et après EPP ont été réalisées par le Dr Stéphane Nottin. Toutes les relectures des données échocardiographiques ainsi que leur retraitement ont été effectués par moi-même. Toutes les évaluations de la fonction cardiaque chez l'animal ont également été réalisées par moi-même.

Dans une première partie, nous allons d'abord présenter les techniques d'échocardiographie de haute résolution utilisées dans les études cliniques. Dans une deuxième partie nous présenterons les méthodologies spécifiques utilisées dans les études n°1 et n°2. Dans une dernière partie nous présenterons la méthodologie mise en place dans l'étude n°3.

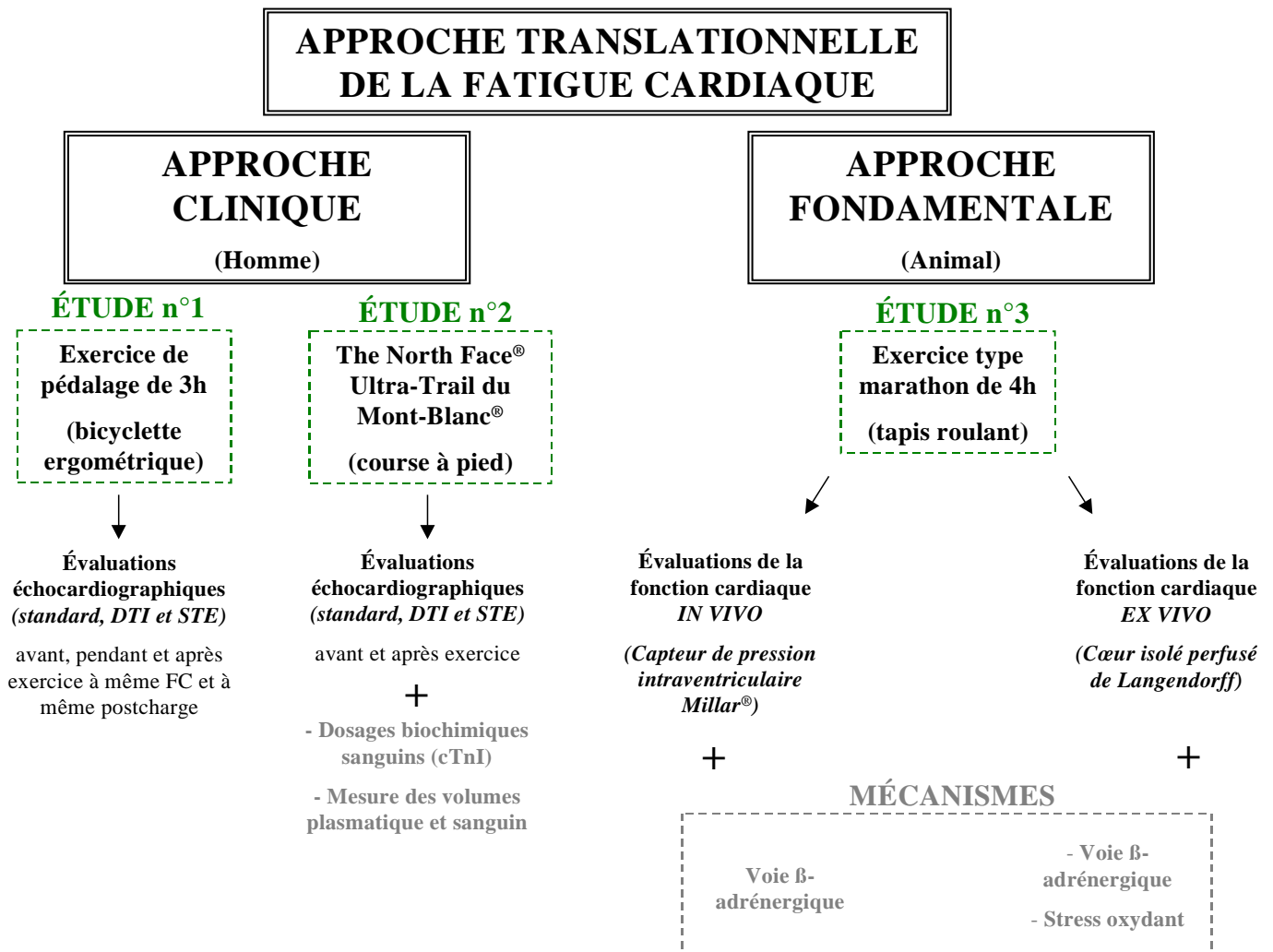


Figure 24 : Schéma récapitulatif de l'ensemble des méthodologies utilisées au cours des différentes études de ce travail de doctorat.

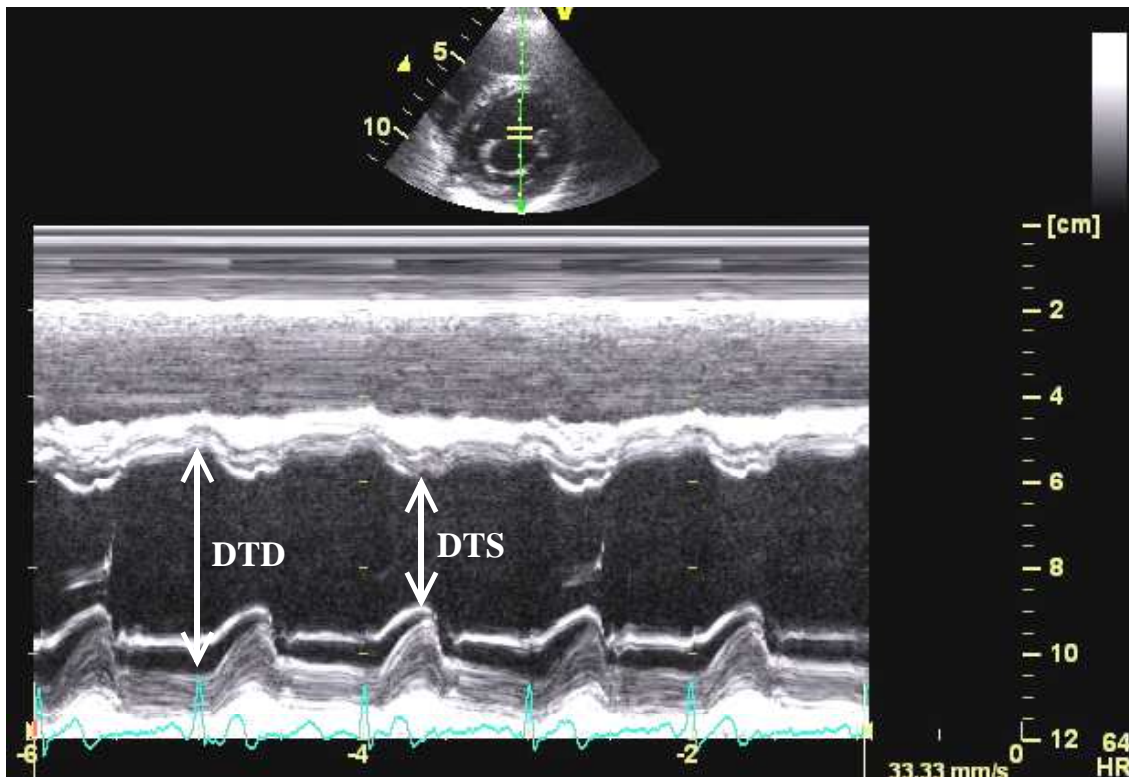
STE = speckle tracking echocardiography, DTI = Doppler tissue imaging.

## 1. Bilans échocardiographiques

Toutes les évaluations échocardiographiques ont été réalisées avec des outils de dernière génération en terme d'échocardiographie : le vivid 7 Dimension<sup>®</sup> pour l'étude n°1 et le vivid Q<sup>®</sup> (appareil portable, plus adapté aux études de « terrain ») pour l'étude n°2.

### 1.1. Évaluations échocardiographiques standards

L'échocardiographie standard a été réalisée à partir des modes 2D, TM et Doppler. Les paramètres morphologiques ventriculaires gauches (DTD et DTS, épaisseur du septum interventriculaire et de la paroi postérieure) ont été mesurés en mode TM (cf. *Figure 25*) suivant les recommandations de la société Américaine d'échocardiographie (Sahn *et al.*, 1978). La masse du VG a été calculée suivant la formule de Devereux (Devereux *et al.*, 1986).



**Figure 25 : Exemple d'une étude morphologique TM du VG selon une coupe parasternale petit axe.**

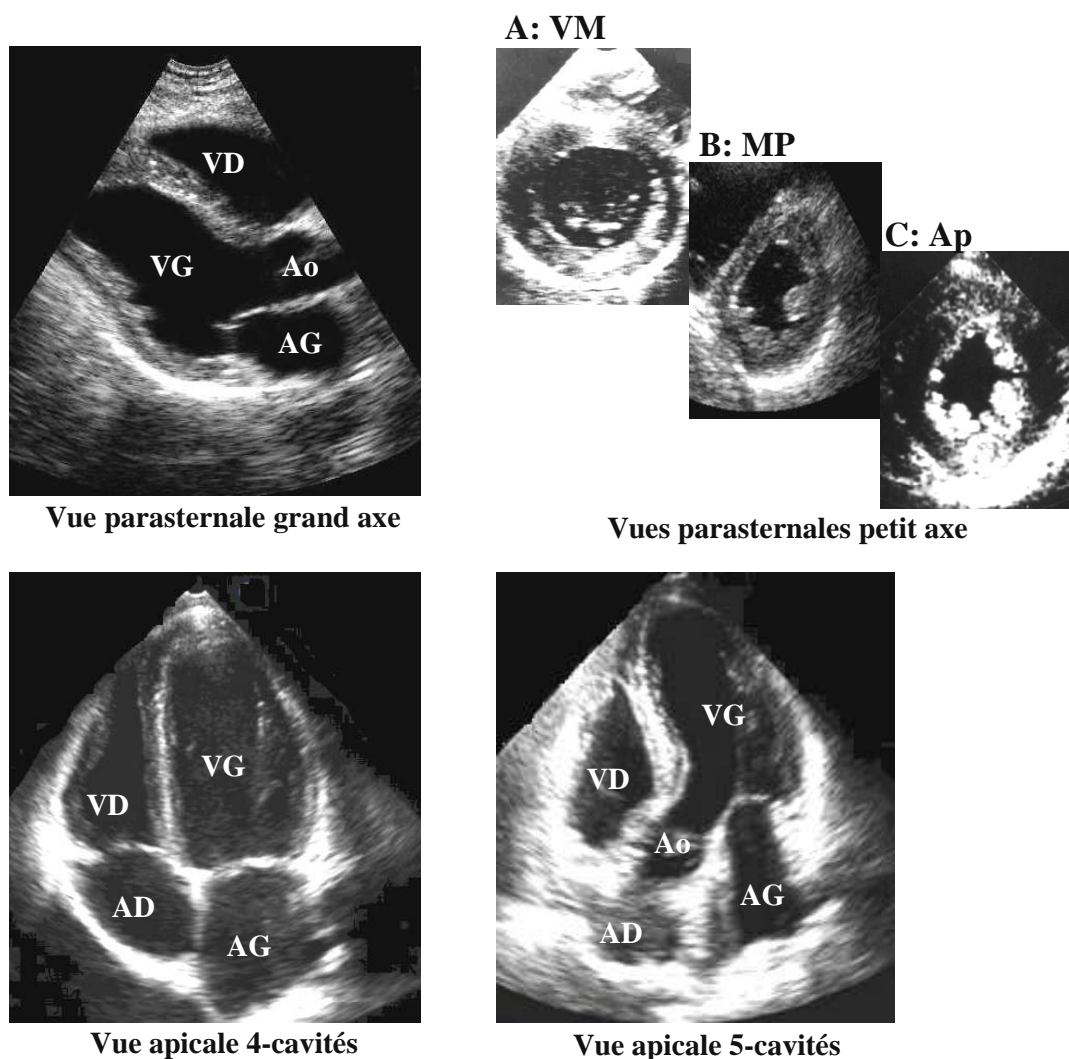
DTD = diamètre télédiastolique ; DTS = diamètre télésystolique.

La fonction diastolique a été étudiée à partir de l'évaluation des flux transmitraux grâce au Doppler pulsé réalisé à partir d'une coupe apicale 4-cavités (cf. *Figure 26*). Nous avons obtenu les vitesses des flux sanguins au niveau de l'anneau mitral en situant le tir Doppler au point de fermeture des valves mitrales. Nous avons ainsi mesuré les ondes E, A et le rapport E/A.

La fonction systolique a tout d'abord été étudiée à partir du VES. Le VES a été obtenu en multipliant la surface de section de l'aorte mesurée à partir d'une coupe parasternale grand axe (cf. *Figure 26*), par la hauteur de la colonne de sang calculée en faisant l'intégrale en



fonction du temps (ITV) des vitesses du flux aortique mesurées par Doppler pulsé à partir d'une coupe apicale 5-cavités (cf. *Figure 26*). Le débit cardiaque a été calculé en multipliant le VES par la FC. La FR, indice global de la fonction systolique, a été calculée à partir des diamètres ventriculaires *via* la formule suivante :  $FR = (DTD - DTS) / DTD \times 100$ . La FE, également considérée comme indice global de la fonction systolique, a été calculée à partir des volumes ventriculaires gauches (VTD et VTS) évalués par la méthode biplan de Simpson.

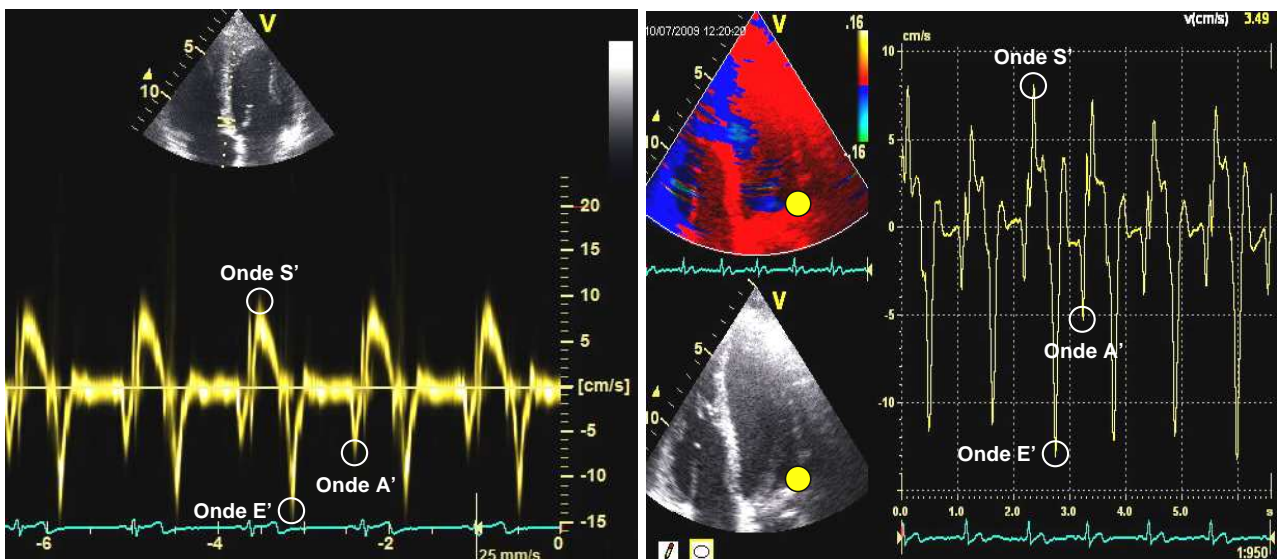


**Figure 26 : Différentes coupes échocardiographiques utilisées au cours des bilans échocardiographiques.**

Ao = artère aorte, AD = atrium droit, AG = atrium gauche, VD = ventricule droit, VG = ventricule gauche, VM = au niveau de la valve mitrale, MP = au niveau des muscles papillaires, Ap = au niveau de l'apex.

## 1.2. Évaluations par Doppler tissulaire

Au cours de l'examen, des boucles ont été enregistrées à partir de coupes apicales 4, 3 et 2-cavités à une fréquence d'acquisition élevée (*i.e.* au moins 120 Hz) et en utilisant la fonction spécifique DTI couleur de l'appareil (cf. *Figure 27*). Celles-ci étaient constituées de 5 cycles cardiaques consécutifs respiration du sujet bloquée en fin d'expiration. Nous avons ainsi évalué par DTI, *a posteriori* et de manière spectrale, la vitesse de déplacement longitudinale des parois latérale et septale du VG en systole (onde S') et diastole (onde E' et A').



**Figure 27 :** Exemples d'évaluations DTI spectrale (à gauche) et *a posteriori* (à droite) des vitesses de déplacement longitudinal des parois myocardiques septale (à gauche) et latérale (à droite) au cours du temps.

### 1.3. Évaluations par Speckle Tracking Echocardiography

Au cours de l'examen, des boucles ont été enregistrées à partir des coupes apicale 4-cavités et parasternale petit axe (cf. Figure 26) au niveau basal et apical. Afin d'autoriser une évaluation par STE par le logiciel, les images ont été enregistrées avec une fréquence d'acquisition comprise entre 55 Hz et 70 Hz et en présence d'un électrocardiogramme de bonne qualité. Les déformations longitudinales ont été évaluées à partir de coupes apicales 4-cavités. Les déformations circonférentielles et radiales ainsi que les rotations ont été évaluées à partir des coupes parasternales petit axe au niveau basal et apical selon les recommandations de Van Dalen et *al* (2008) (van Dalen *et al.*, 2008).

### 1.4. Relecture et retraitement des données recueillies grâce aux techniques échocardiographiques

Toutes les données recueillies durant ces travaux ont été relues à partir d'une station de retraitement équipée d'un logiciel spécifique (Echopac PC, version 6, GE Healthcare, USA).

#### 1.4.1. Relecture des paramètres standard et issus du Doppler tissulaire

Les diamètres ventriculaires gauches, les épaisseurs pariétales, les pics des ondes E et A (cf. Figure 28), les ITV des flux aortiques, le diamètre de l'aorte et la FC ont été relus directement à partir des images enregistrées lors des examens. Nous avons mesuré les délais d'apparition à partir du début de l'électrocardiogramme des événements du cycle cardiaque

suivants (en milliseconde) : début, pic et fin du flux d'éjection aortique ; début, pic et fin de l'onde E. Le temps de relaxation isovolumétrique a été mesuré en calculant le délai entre la fin de l'éjection et le début de E. Les tracés DTI ont été obtenus *a posteriori* et / ou selon les études par Doppler spectral en plaçant l'échantillon de mesure au niveau de l'anneau mitral sur les parois latérale, septale, inférieure, antérieure, postérieure et antéro-postérieure. La moyenne des pics des ondes E' des parois septale et latérale a été considérée comme un indice de relaxation myocardique (Nagueh *et al.*, 2009). S' a été considérée comme indice global de contractilité du VG (Seo *et al.*, 2010). Le rapport entre le pic E du flux transmitral et le pic E' de vitesse de déplacement du myocarde au niveau de la paroi latérale (*i.e.* rapport E / E') a été calculé afin d'estimer les pressions de remplissage du ventricule (Nagueh *et al.*, 1997).

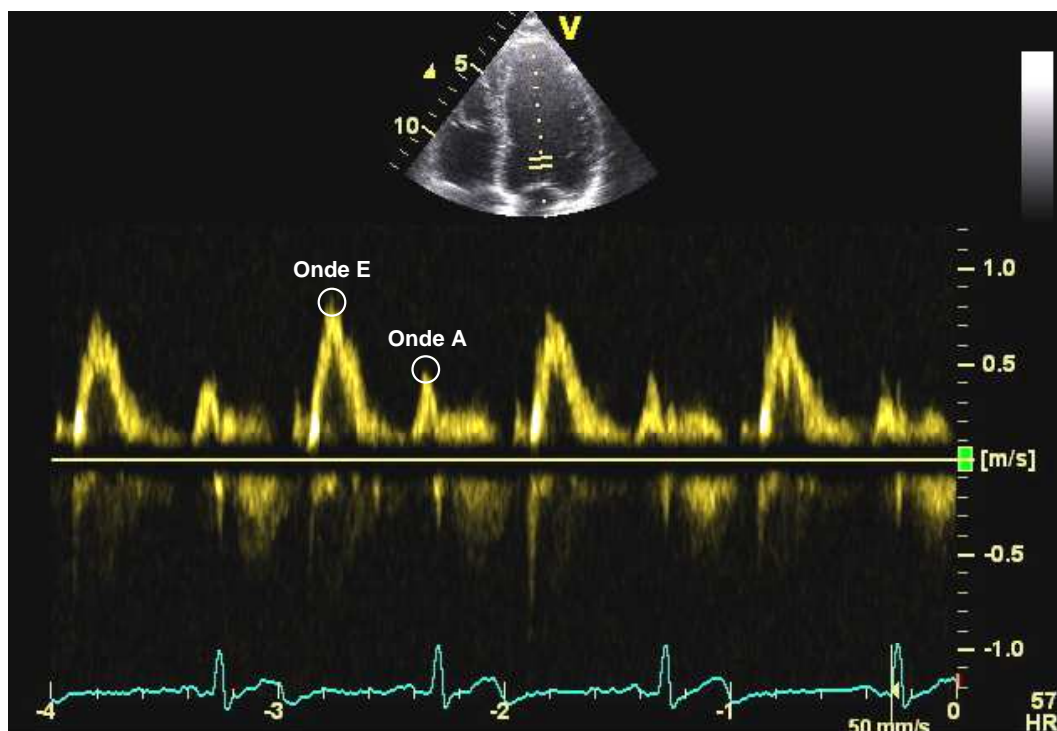
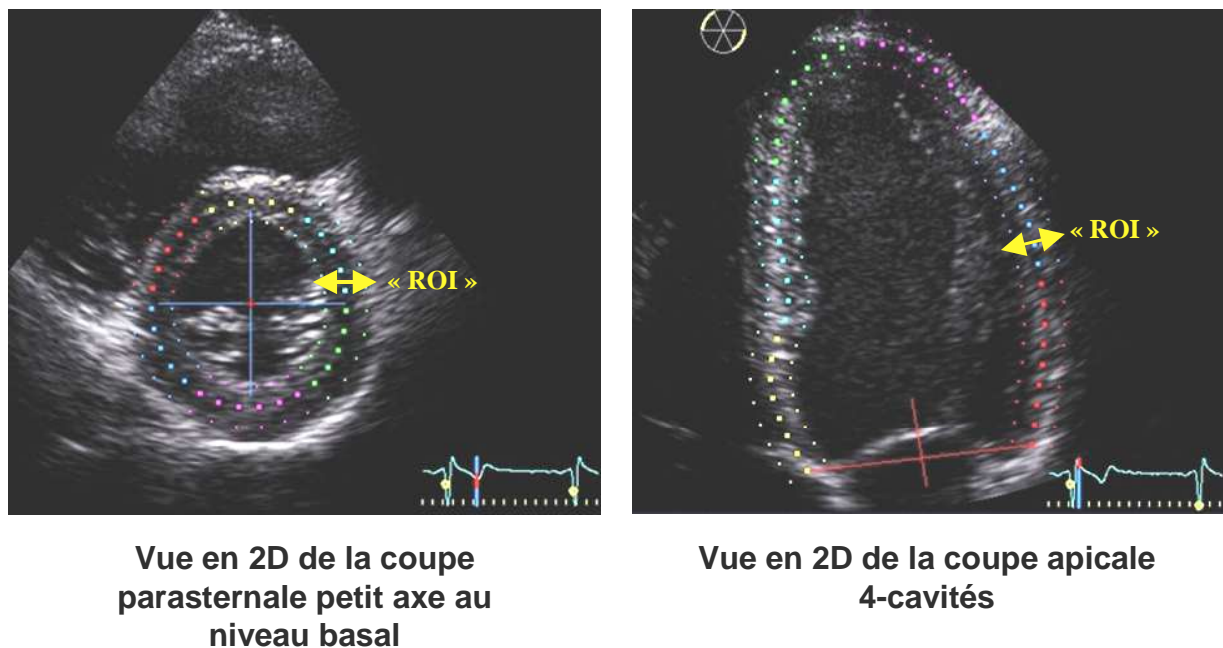


Figure 28 : Exemple d'un flux transmitral pour l'analyse Doppler des ondes E et A.

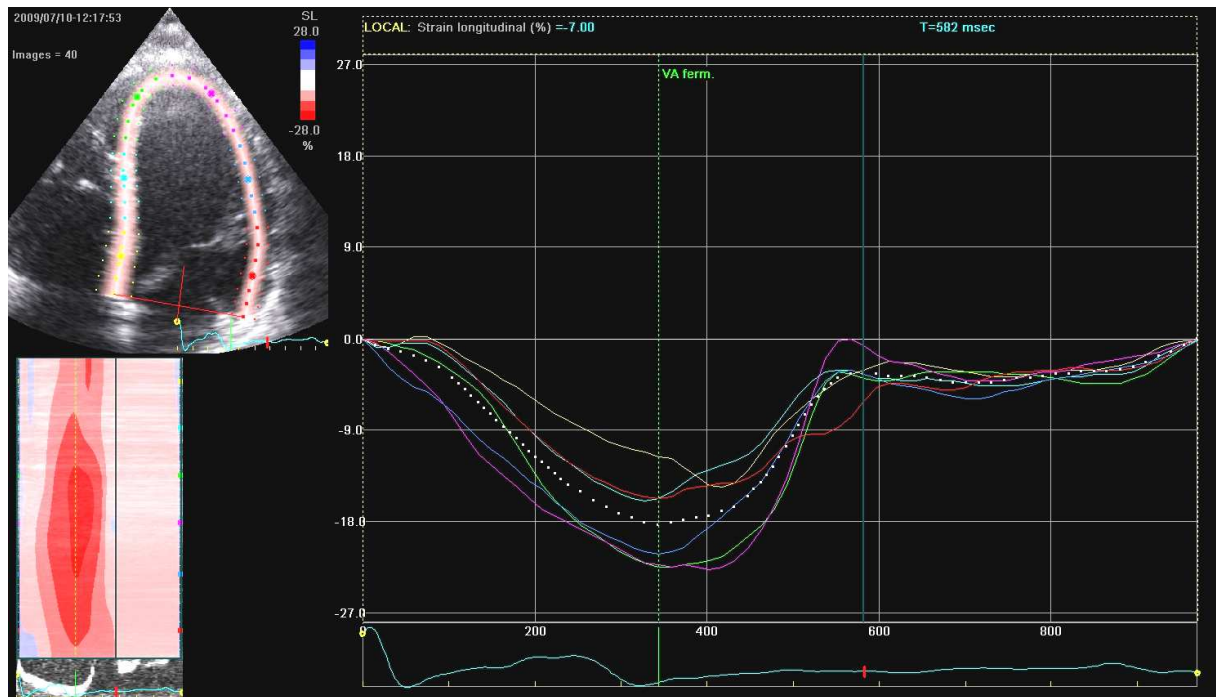
#### 1.4.2. Retraitement des paramètres STE

Le protocole de retraitement des informations obtenues par STE a été identique quelles que soient les coupes échographiques utilisées. À partir de la fonction « 2D-Strain » du logiciel de retraitement dédié (EchoPac 6.0, GE Healthcare, Horten, Norvège) nous avons détourné manuellement l'endocarde en commençant par le lieu indiqué par l'appareil. Le logiciel a déterminé automatiquement la région d'intérêt (dénommée « Region of Interest, ROI ») incluant le myocarde dans sa globalité (cf. *Figure 29*).



**Figure 29 : Exemples de détection automatique de la région d'intérêt (« ROI », ici comprenant à la fois l'endocarde et l'épicarde) à partir de différentes coupes.**

Ensuite, le logiciel détermine le niveau médian du myocarde pour toutes les images et calcule les valeurs des déformations et des vitesses moyennes de déformation pour chaque segment au cours du temps. Ces valeurs sont représentées sur un graphique et sont codées par des couleurs représentant chacune des segments anatomiques du myocarde (cf. *Figure 30*). Les données issues du STE ont été exportées vers des scripts de retraitement développés sous SciLab, un langage de programmation spécifique (Scilab 4.1, Consortium Scilab, INRIA-ENPC, Paris, France). Ces scripts, développé au sein de notre équipe par le Dr Thomas Rupp actuellement au laboratoire HP2 (INSERM) du CHU de Grenoble, nous ont permis d'exprimer les déformations ventriculaires de chaque sujet en pourcentage du temps de systole (la fermeture des valves aortiques représente 100% de la systole) afin de s'affranchir des différences de FC entre les sujets ainsi que des différences de fréquence d'acquisition de la sonde (Takeuchi *et al.*, 2006). Après la normalisation, le logiciel a moyenné automatiquement chaque variable sur 3 à 5 cycles cardiaques et a détecté automatiquement les pics de déformation, de vitesse de déformation, de torsion ventriculaire ainsi que les délais d'atteinte de l'ensemble de ces pics pendant le cycle cardiaque (en % du temps de systole). La torsion du VG a été estimée avec la formule suivante : rotation apicale – rotation basale. La rotation à l'apex (Kim *et al.*, 2009) ainsi que le pic de vitesse de déformation longitudinale systolique (Greenberg *et al.*, 2002) ont été considérés comme des indices de contractilité VG.



**Figure 30 : Exemple d'une déformation du VG au cours du temps grâce au STE (ici, déformation longitudinale).**

Chaque courbe de couleur correspond à un segment du myocarde. La courbe en pointillé correspond à la moyenne des six segments (jaune = antéroseptal, bleu ciel= antérieur, vert = latéral, violet = postérieur, bleu foncé = inférieur, rouge = septal).

## 2. Méthodologie spécifique mise en place pour l'étude n°1

### 2.1. Population d'étude

Le tableau ci-dessous représente les caractéristiques morphologiques et sportives de la population de l'étude. Cette population de sujets masculins était jeune avec des caractéristiques morphologiques moyennes et un niveau de pratique sportive classé dans la catégorie pratique loisir ou sujet amateur (di Prampero, 2003).

<b>Âge (années)</b>	23 ± 3
<b>Taille (cm)</b>	179 ± 6
<b>Masse corporelle (Kg)</b>	72 ± 8
<b>% masse grasse</b>	15 ± 4
<b>% masse maigre</b>	76 ± 4
<b>VO<sub>2</sub>max théorique (mL.min<sup>-1</sup>.kg masse corporelle<sup>-1</sup>)</b>	42 ± 1

**Tableau 14 : Caractéristiques morphologiques et sportives de la population de l'étude n°1.**

La consommation maximale d'oxygène (VO<sub>2</sub>max) a été estimée à partir de l'équation de Wasserman, 1987 : VO<sub>2</sub>max théorique = Poids \* (50,72 - 0,372\*Age).



## 2.2. Design expérimental de l'étude n°1

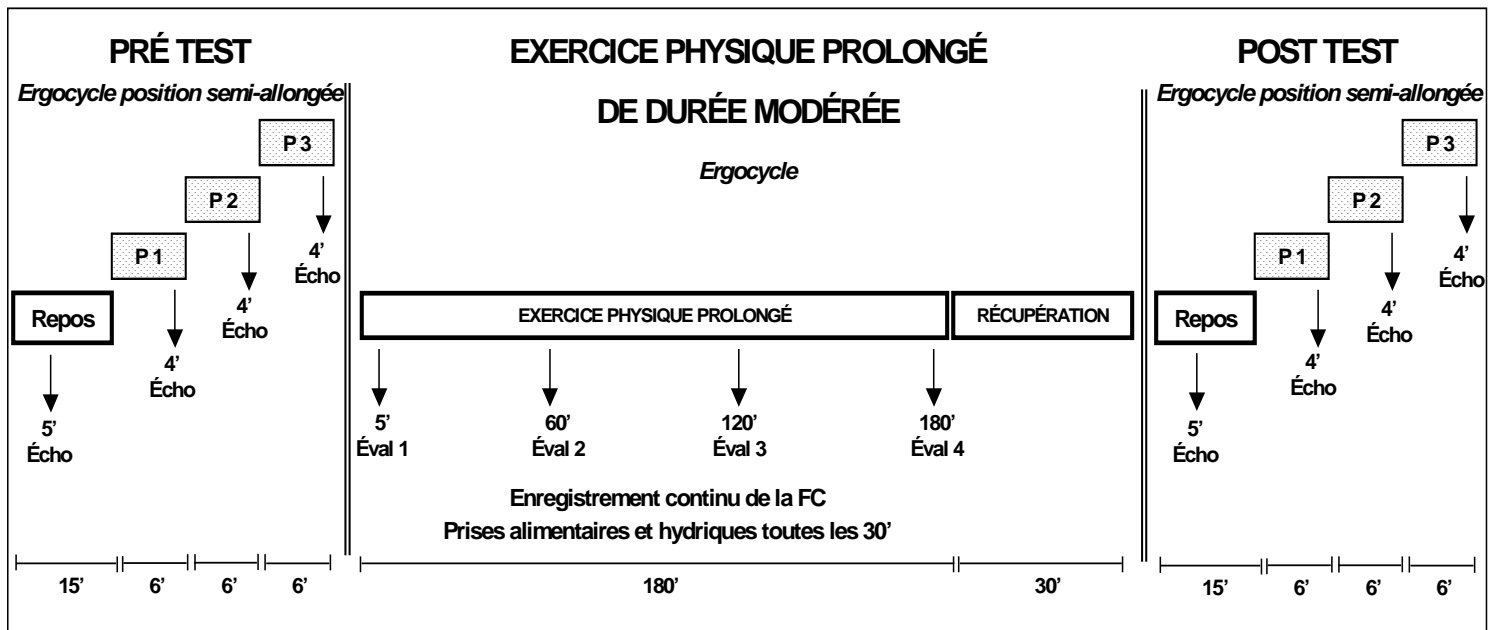


Figure 31 : Design expérimental de l'étude n°1.

Écho = évaluations échocardiographiques, Éval = évaluation des adaptations cardiovasculaires à l'effort avec une sonde Pedof, P = palier d'effort sous-maximal

### 2.2.1. Évaluations échocardiographiques réalisées avant et après l'exercice de pédalage de 3 heures

Au cours de ce protocole, les analyses échocardiographiques standard, Doppler tissulaire et STE de la fonction cardiaque ont été réalisées dans des conditions de repos et au cours de deux exercices sous-maximaux d'intensité croissante avant et 30 minutes après l'exercice de pédalage de 3 heures sur ergocycle. Afin de bénéficier d'une qualité d'imagerie optimale en condition d'exercice, les exercices sous-maximaux ont été effectués sur un ergocycle spécifique en position semi-allongée (eBike EL ergometer, GE Healthcare, Horten,

Norway) (cf. *Figure 32*).

Après une période de repos de 15 minutes à 20 minutes, le premier exercice progressif a comporté 3 paliers sous-maximaux de 6 minutes à 20 %, 30 % et 40% de la puissance maximal aérobie théorique des sujets. Cette puissance a été évaluée *via* l'équation de Wasserman, 1987 à partir de la masse corporelle et de l'âge des sujets et corrigée pour l'adaptée à la position spécifique de l'ergocycle (diminution de 20% par rapport aux valeurs normales). Au cours des deux exercices sous-maximaux, la cadence de pédalage était fixée et constante à 70 tours.min<sup>-1</sup>.

Lors du deuxième exercice progressif, réalisé 30 minutes après l'arrêt de l'exercice prolongé, l'intensité de chaque palier a été ajustée pour que chaque sujet atteigne des FC identiques à celles atteintes lors du premier exercice progressif.



**Figure 32 : Ergocycle spécifique utilisé pour réaliser les évaluations échocardiographiques d'effort.**

Au repos et durant les 4 dernières minutes des différents paliers d'exercices sous-maximaux, les diamètres du VG ont été mesurés grâce aux boucles d'enregistrement réalisées en petit axe

au niveau des muscles papillaires. Les ondes E et A ont été évaluées à partir d'une coupe apicale 4-cavités. Les ondes E', A' et S' ont été évaluées par DTI à partir d'une coupe apicale 4-cavités au niveau de l'anneau mitral sur les parois septale et latérale. Des boucles ont été enregistrées à partir de coupes apicale 4-cavités et parasternale petit axe à la base et à l'apex pour l'évaluation des déformations et de la torsion du myocarde. Enfin, durant les 30 dernières secondes de chaque palier nous avons mesuré le VES par voie suprasternale à l'aide d'une sonde Pedof (5.56 MHz, GE Healthcare, Horten, Norway).

### 2.3. Évaluations cardiovasculaires pendant l'exercice prolongé de 3 heures

Toutes les mesures ont été réalisées avec un second échocardiographe (MyLab™30, Esaote, Naples, Italie). Au cours de cet EPP de durée modérée, nous avons évalué l'intégrale temps-vitesse du flux aortique ascendant à 5 minutes, 1 heure, 2 heures, et 3 heures de pédalage avec une sonde Pedof (2 MHz, Esaote, Naples, Italie) positionnée au niveau parasternal. La FC, le VES et le débit cardiaque ont été calculés *a posteriori* grâce au logiciel MyLab™ Desk (Esaote, Naples, Italy). Les pressions sanguines systolique et diastolique ont été évaluées avec un sphygmomanomètre. La FC a été suivie en continu grâce à la ceinture Memory Belt® (Suunto; Vantaa, Finland).

### 3. Méthodologie spécifique mise en place pour l'étude n°2

#### 3.1. Population de l'étude

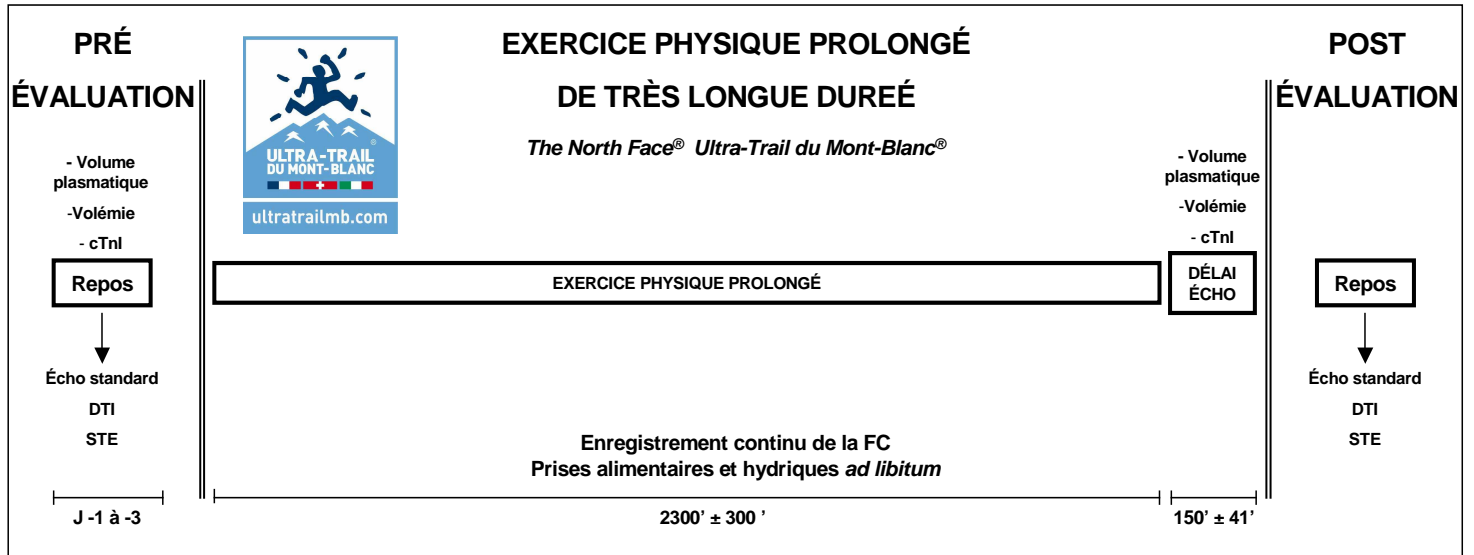
Le tableau ci-dessous représente les caractéristiques morphologiques et sportives de la population de l'étude. Cette population de sujets masculins était d'âge moyen avec des caractéristiques morphologiques moyennes et un niveau de pratique sportive classé dans la catégorie niveau départemental ou sujet actif (di Prampero, 2003).

<b>Âge (années)</b>	42 ± 8
<b>Taille (cm)</b>	178 ± 7
<b>Masse corporelle (Kg)</b>	74 ± 6
<b>% masse grasse</b>	13 ± 4
<b>% masse maigre</b>	75 ± 3
<b>VO<sub>2</sub>max (mL.min<sup>-1</sup>.kg masse corporelle<sup>-1</sup>)</b>	54 ± 4

**Tableau 15 : Caractéristiques morphologiques et sportives de la population de l'étude n°1.**

La consommation maximale d'oxygène (VO<sub>2</sub>max) a été obtenue au cours d'un test d'effort maximal sur tapis roulant au laboratoire de Physiologie de l'Exercice de l'Université Jean Monnet de Saint-Etienne.

## 3.2. Design expérimental de l'étude n°2



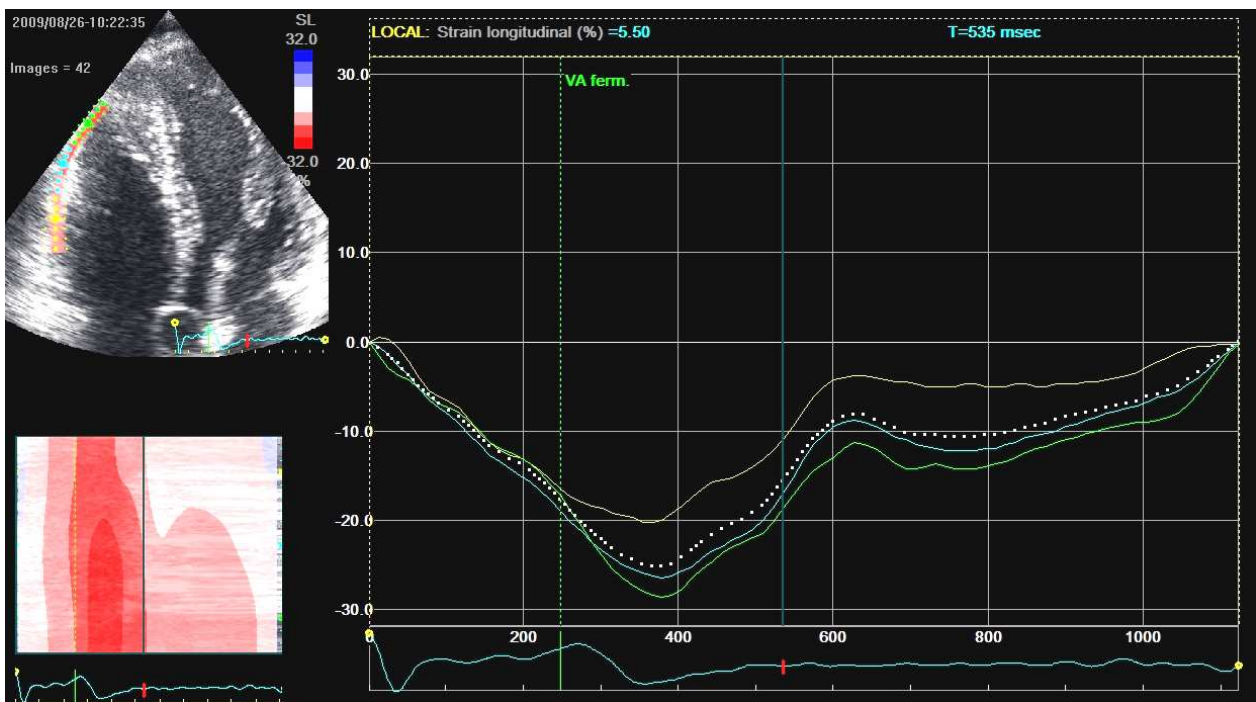
**Figure 33 : Design expérimental de l'étude n°2.**

Écho = échocardiographie, DTI = Doppler Tissue Imaging, STE = Speckle Tracking Echocardiography, délai écho = temps moyen mis avant de pouvoir faire les évaluations échocardiographiques après l'arrêt de la course. La durée de l'EPP indiquée, est la durée moyenne de course sur l'ensemble de la population d'étude (*i.e.* 2300 minutes ± 300 minutes).

Seize coureurs parmi les 21 recrutés dans l'étude ont été équipés d'un enregistreur Garmin® (Garmin Forerunner 310XT, Olathe, KS, EUA) qui nous a permis d'acquérir en continu à la fois la FC mais aussi l'altitude. Avant et après la course, un bilan cardiaque de repos a été réalisé par échocardiographie. Les volumes plasmatique et sanguin ont été estimés par la technique de ré-inhalation de monoxyde de carbone (CO) et des prélèvements sanguins ont été effectués pour le dosage des cTnI.

### 3.3. Évaluations échocardiographiques réalisées avant et après UTMB<sup>®</sup>

Nous avons réalisé l'ensemble des évaluations échocardiographiques dans des conditions de repos avant et après l'épreuve prestigieuse de course à pied de pleine nature autour du Mont-Blanc dénommée « The North Face<sup>®</sup> Ultra-Trail du Mont-Blanc<sup>®</sup> ». Nous avons évalué la fonction et la morphologie du VG et du VD par échocardiographies standard, Doppler tissulaire et STE. Les dimensions des oreillettes gauche et droite ont également été évaluées à partir de coupes parasternale grand axe et apicale 4-cavités. La FE a été calculée à partir des volumes ventriculaires gauches estimés à partir de la méthode biplan de Simpson (*i.e.*  $(VTD - VTS / VTD) * 100$ ). Le VES a été calculé à partir du produit entre la surface de la chambre aortique et l'ITV du flux sanguin aortique évaluées à partir d'une coupe apicale 5-cavités. La fraction de changement d'aire (FAC) du VD (*i.e.* indice de fonction systolique du VD) a été calculée de la manière suivante :  $[(\text{aire VD fin de diastole} - \text{aire VD fin de systole}) / (\text{aire VD fin de diastole})] * 100$ . Le taux d'excursion systolique de l'anneau tricuspide (*i.e.* indice de fonction systolique du VD) a été obtenu à partir de coupes apicale 4-cavités. En plus de ces paramètres échocardiographiques standards, nous avons évalué les flux veineux pulmonaires par l'analyse des ondes S, D et Ar par Doppler pulsé en incidence apicale 4-cavités. Enfin, le STE nous a permis d'évaluer la fonction du VG par l'analyse des 3 déformations normales, des rotations, de la torsion et de leurs vitesses associées. Originalité importante de l'étude, la fonction du VD a été évaluée par l'analyse des déformations longitudinales de la paroi libre du VD (3 segments) et de leurs vitesses associées (cf. *Figure 34*).



**Figure 34 : Exemple de déformation longitudinale du VD évaluée au cours du temps grâce au STE.**

Chaque courbe de couleur correspond à un segment du myocarde. La courbe en pointillé correspond à la moyenne des six segments (jaune = basal, bleu ciel= médian, vert = apical).

### 3.4. Évaluations des marqueurs de dommages cellulaires myocardiques avant et après l'UTMB®

Le dosage des troponines I cardiaques nous a renseigné sur l'état membranaire des cardiomyocytes après la course. En effet, la sous-unité protéique I de la troponine présente un isoforme myocardique qui est considéré comme un marqueur spécifique de dégradation membranaire des cellules myocardiques. Ce dosage a été réalisé en collaboration avec le laboratoire de biochimie du CHU de Nîmes par le Dr Anne Polge sur des échantillons de sérum. Après avoir fait incuber les échantillons avec un anticorps anti-cTnI labellisé à

l'acridine, il se produit une réaction de chimiluminescence mesurée en unité relative de lumière grâce à un automate d'immunoanalyse (ABBOTT, Architect®i1000SR™, Abbott Park, Illinois, USA). La luminescence présente une relation linéaire avec la quantité de troponine-I dans l'échantillon. La concentration de cTnI est enfin déterminée par rapport à une courbe standard établie à l'aide de calibrateurs de concentrations connues en cTnI. Le seuil de sensibilité de la technique utilisée était de 0,01  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Le seuil décisionnel (99<sup>ème</sup> percentile d'une population de référence) propre à la méthode de dosage pour le diagnostic du syndrome coronarien aigu était de 0,032  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . L'analyse des cTnI nous a permis d'évaluer les éventuels dommages cardiaques occasionnés au cours de l'UTMB®.

### 3.5. Évaluations du volume plasmatique et de la volémie

Nous avons pu réaliser le calcul du volume plasmatique et de la volémie chez tous les sujets de l'expérimentation en collaboration avec le Dr Paul Robach du département de recherche biomédicale de l'Ecole Nationale de Ski et d'Alpinisme de Chamonix. Les valeurs de ces volumes ont été estimées à partir des valeurs de la concentration sanguine en hémoglobine, de l'hématocrite et de la masse totale d'hémoglobine évaluées par une méthode adaptée de la méthode de ré-inhalation de CO de (Burge & Skinner, 1995).



## 4. Méthodologie mise en place pour l'étude n°3

Les expérimentations se sont essentiellement déroulées au sein des locaux de l'EA-4278 d'Avignon. Des analyses biochimiques ont été réalisées au sein de l'EA-2993, du laboratoire de biochimie hormonale et nutritionnelle du CHU nord de Grenoble et du laboratoire de biochimie du CHU de Nîmes pour réaliser respectivement les dosages du malondialdéhyde (MDA) dans le tissu myocardique, des catécholamines plasmatiques et des cTnI dans le plasma.

Toutes les expériences ont été menées en accord avec les directives du ministère français de l'agriculture et les conventions européennes relatives (directive n° 86/609 du 24/11/1986) à l'expérimentation animale sur des animaux de laboratoire.

### 4.1. Population d'étude

Dans cette approche fondamentale, nous nous sommes attachés à investiguer l'implication de la voie  $\beta$ -adrénergique et du stress oxydant *via* la Nox dans la survenue de la fatigue cardiaque induite par EPP. Les animaux ont été répartis aléatoirement dans quatre groupes expérimentaux :

- Les rats contrôles (**Ctrl**): placés en environnement standard d'animalerie.
- Les rats coureurs (**PSE**): familiarisés à la course sur tapis roulant pendant 5 jours, soumis à un test de vitesse maximal aérobie (VMA) et à un EPP de 4 heures.

Les rats contrôles (**Ctrl APO**) et coureurs (**PSE APO**) traités à l'apocynine ont été placés dans les mêmes conditions que les deux groupes précédents et traités pendant 3 jours à

l'apocynine ( $1,5 \text{ mmol.L}^{-1}$ ) dans l'eau de boisson.



<b>Animal</b>	Rat
<b>Lignée</b>	Wistar
<b>Âge (semaines)</b>	10
<b>Poids(g)</b>	300-350
<b>Statut sanitaire</b>	Conventionnel
<b>Provenance</b>	Centre d'élevage spécialisé déclaré: Laboratoires Charles River (Lyon, France)
<b>Hébergement et Stabulation</b>	Conventionnels: A1 Conditions standards T° et humidité Éclairage 12h jour : 12h nuit Nourriture et eau ad libitum

**Tableau 16 : Caractéristiques, provenance et conditions d'hébergement des animaux.**

Les caractéristiques des animaux utilisés dans l'étude ainsi que leur provenance et leur conditions d'hébergement sont présentées dans le tableau ci-dessous. Les rats utilisés étaient des rats adultes de la lignée Wistar, de poids moyen, ayant une stabulation adaptée et évoluant dans un environnement d'animalerie conventionnelle.

Les évaluations de la fonction cardiaque ont été effectuées chez les rats contrôles sédentaires et après un EPP chez les rats coureurs. Nous allons donc décrire dans un premier temps le protocole d'EPP puis nous décrivons les différentes méthodes d'analyse de la fonction cardiaque effectuées.

#### 4.2. Protocole expérimental de l'EPP

Tous les animaux ont été familiarisés au tapis roulant pendant une période de cinq jours. Pendant cette phase, les animaux couraient entre 30 minutes et 40 minutes à des vitesses de course progressives allant de 7 m.min<sup>-1</sup> à 20 m.min<sup>-1</sup>. Les rats Ctrl étaient placés dans les mêmes conditions que les rats PSE sans réaliser l'entraînement à la course. Le dernier jour de la phase de familiarisation, les rats PSE étaient soumis à un test de VMA. Ce test commençait par une période d'échauffement (*i.e.* 5 minutes à 7,5 m.min<sup>-1</sup>), puis la vitesse de course était augmentée de 1,5 m.min<sup>-1</sup> toutes les 2 minutes jusqu'à ce que les animaux ne puissent plus maintenir l'intensité de course imposée. Deux jours après le test de VMA, les rats PSE étaient soumis à une course de 4 heures à 60 %-65 % de VMA sur tapis roulant avec 0 % de pente. Les animaux étaient ensuite sacrifiés dans la demi-heure suivant la fin de course afin de réaliser les différentes expérimentations.

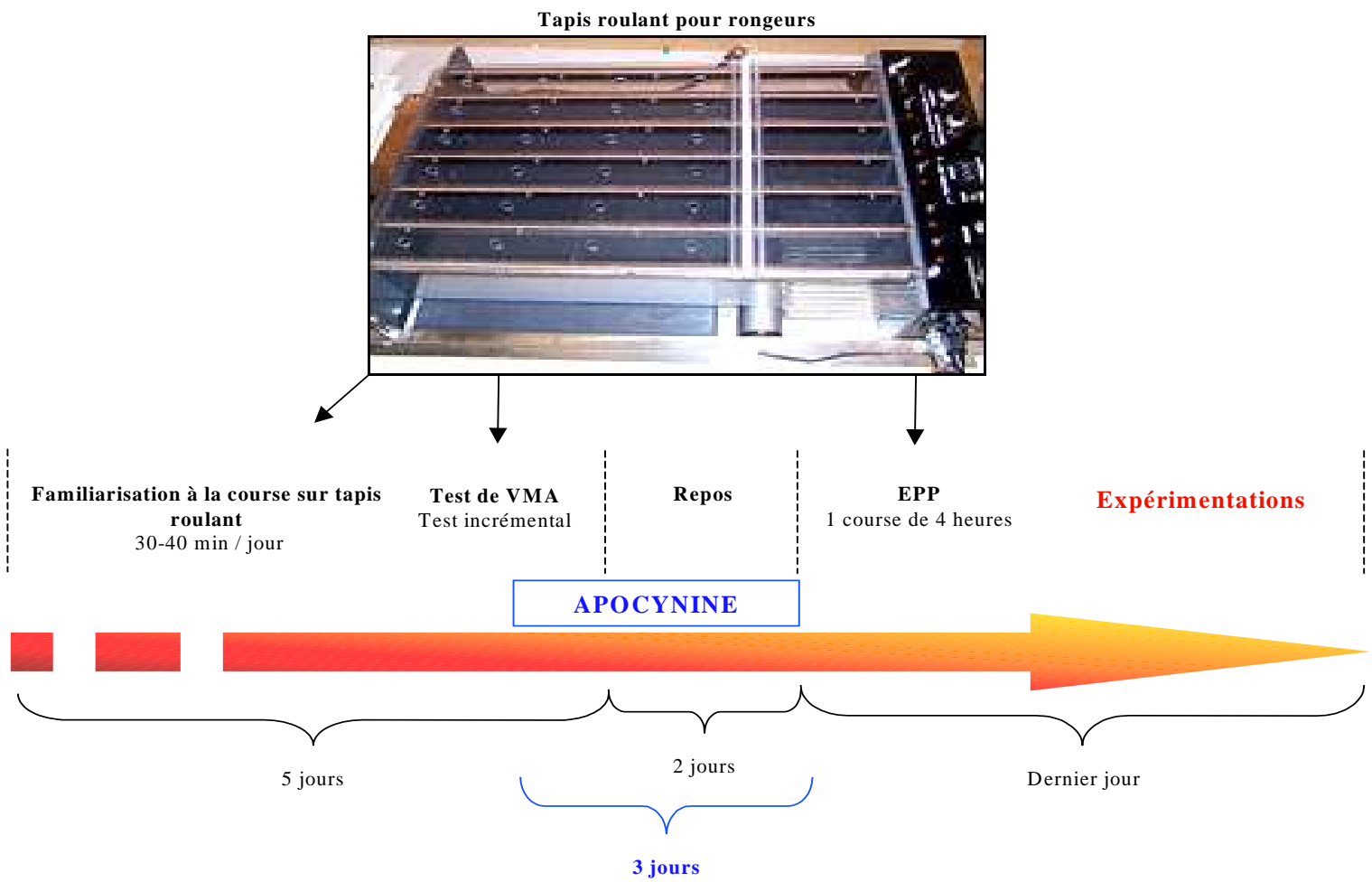


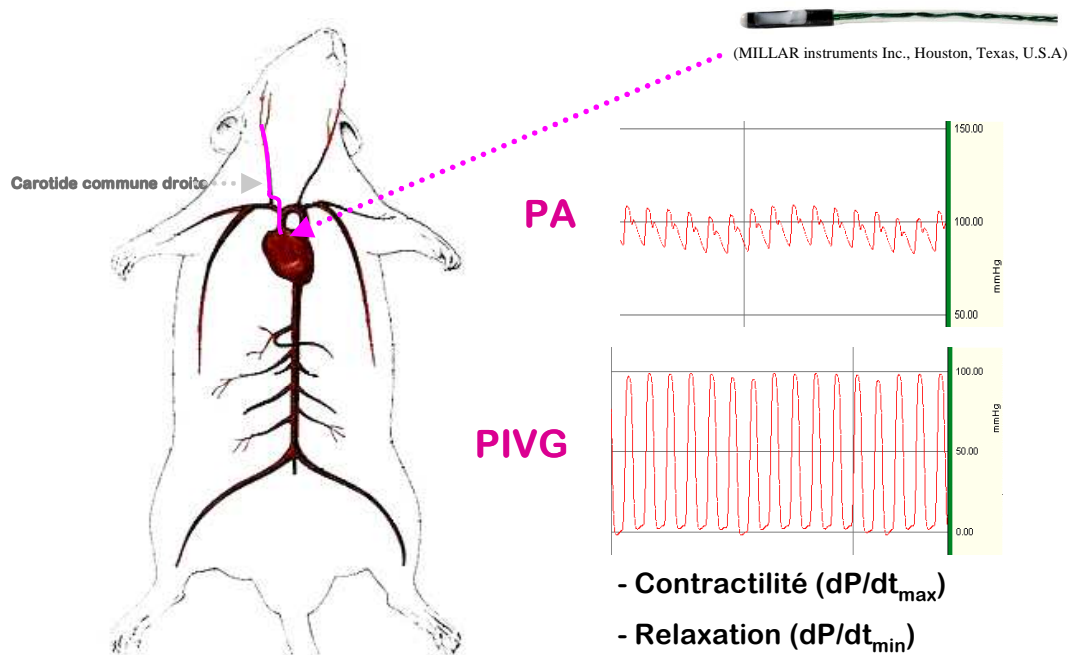
Figure 35 : Modèle animal de fatigue cardiaque utilisé dans l'étude n°3.

#### 4.3. Évaluations de la fonction cardiaque chez le rat

##### 4.3.1. Évaluation de la fonction cardiaque *in vivo*

Trente minutes après l'arrêt de la course, les rats ont été anesthésiés par voie intrapéritonéale avec du pentobarbital sodique  $60 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Un capteur de pression-volume Millar® (SPR 407, Millar Instruments, Houston, Texas, USA) a été introduit dans l'artère

carotide commune droite pour permettre l'enregistrement des pressions artérielles comme décrit précédemment (Tanguy *et al.*, 2004) (cf. *Figure 36*). Le capteur a ensuite été avancé dans la cavité du VG afin d'enregistrer la pression intraventriculaire et les vitesses maximales de développement et de diminution de la pression intraventriculaire gauche (*i.e.* respectivement  $dP/dt_{max}$  et  $dP/dt_{min}$ ). L'ensemble des données, dont la FC, a été obtenu grâce au module MP35 (Biopac system, Santa-Barbara, Californie, USA) et a été traité *a posteriori* grâce au logiciel Biopac student Lab<sup>®</sup> Pro version 3.7.

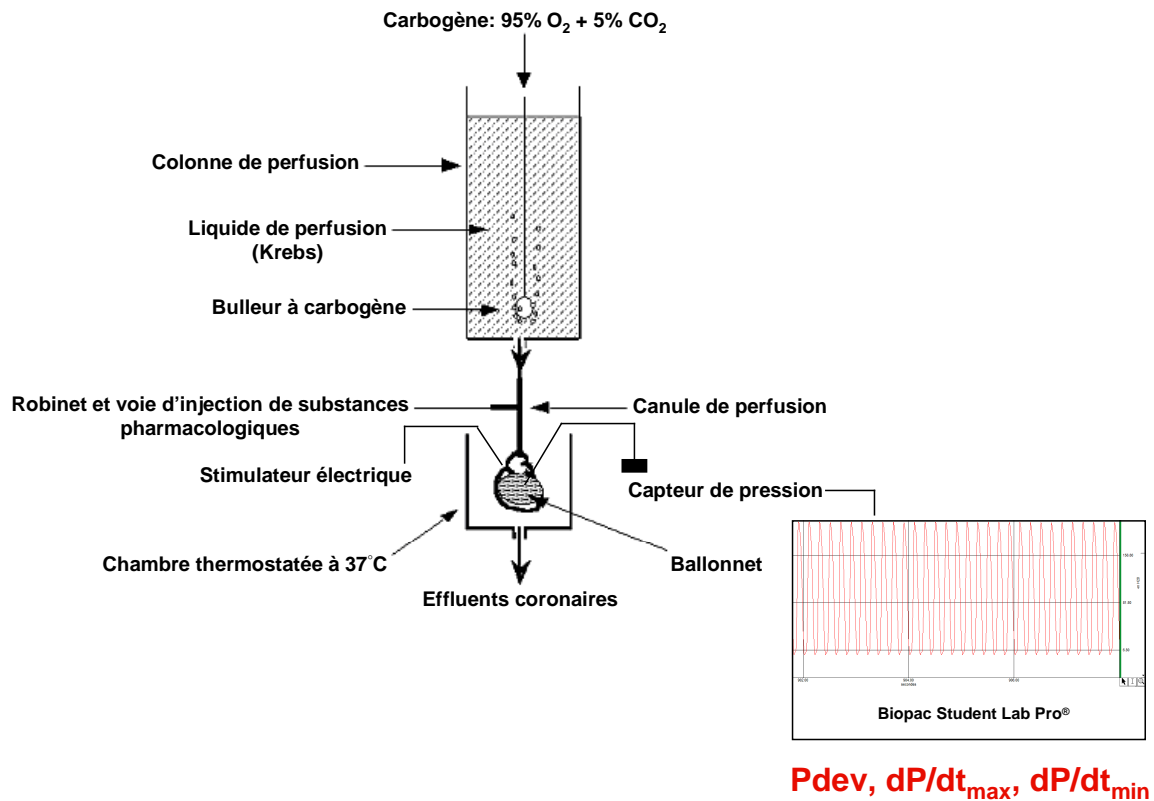


**Figure 36 : Schéma du protocole d'évaluation de la fonction cardiaque *in vivo*.**

PA = pression artérielle, PIVG = pression intraventriculaire gauche.

#### 4.3.2. Évaluation de la fonction cardiaque ex vivo

Une vingtaine de minutes après l'arrêt de la course, les rats ont été anesthésiés et 50 U d'héparine sodique ont été administrées dans la veine saphène. Le cœur a ensuite été rapidement prélevé, placé sur un modèle de cœur isolé perfusé de Langendorff à pression constante (*i.e.* 59 mmHg) et perfusé au niveau de l'artère aorte avec du liquide de Krebs (en mmol.L<sup>-1</sup> : 118 NaCl ; 136,5 KCl ; 0,9 MgSO<sub>4</sub> ; 1,2 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ; 25 NaHCO<sub>3</sub> ; 11 D-glucose and 2,5 CaCl<sub>2</sub>) équilibré avec du carbogène (95% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub>) à 37°C (cf. *Figure 37*). La FC a été contrôlée et fixée à 300 bpm grâce à un stimulateur électrique MP35 SS58L (Biopac system, Santa-Barbara, Californie, USA). Un capteur de pression MP35 SS13L (Biopac system, Santa-Barbara, Californie, USA) formé d'un ballonnet rempli d'eau a été introduit dans la cavité ventriculaire gauche afin de normaliser la pression sanguine diastolique. Le système d'acquisition et de traitement des données a été constitué d'un module MP35 et du logiciel Biopac student Lab<sup>®</sup> Pro version 3.7. Après une période de stabilisation de 20 minutes le capteur placé dans le VG nous a permis de mesurer la pression développée du VG ainsi que  $dP/dt_{\min}$  et  $dP/dt_{\max}$ .



**Figure 37 : Schéma du protocole d'évaluation de la fonction cardiaque *ex vivo*.**

Pdev = pression développée par le VG, dP/dt<sub>max</sub> = indice de contractilité, dP/dt<sub>min</sub> = indice de relaxation.

## 5. Évaluation de l'implication de la voie $\beta$ -adrénergique dans la fatigue cardiaque

La voie  $\beta$ -adrénergique a été investiguée au niveau de l'animal entier et de l'organe isolé. Au niveau de l'animal entier, nous avons mesuré la fonction cardiaque *in vivo* après avoir injecté de l'isoprotérénol ( $\beta_1$  et  $\beta_2$  agoniste) 1 mg.kg<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup> au niveau de la veine saphène. Nous avons mesuré les réponses de la pression intraventriculaire gauche, de dP/dt<sub>min</sub> et de dP/dt<sub>max</sub> à l'isoprotérénol chez les rats Ctrl et PSE.

Au niveau de l'organe isolé, nous avons mesuré la fonction cardiaque *ex vivo* sous stress  $\beta$ -adrénergique. Nous avons réalisé une dose-réponse des paramètres de fonction (*i.e.* pression développée dans le VG,  $dP/dt_{\min}$  et de  $dP/dt_{\max}$ ) à l'isoprotérénol. L'isoprotérénol a été injectée dans le liquide de perfusion avec un débit de  $0,3 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  et sa concentration a été augmentée progressivement de 0 à  $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ . Avec cette méthodologie nous avons pu réaliser des courbes de sensibilité de la pression développée dans le VG à l'isoprotérénol grâce au logiciel Origin<sup>®</sup> 8 (OriginLab, Northampton, Massachusetts, USA) et avons pu calculer la dose effective 50 qui se définit comme la dose d'isoprotérénol nécessaire pour augmenter la pression développée dans le VG de 50 % de la réponse maximale.

En marge de ces expérimentations nous avons également dosé la concentration des catécholamines dans le plasma chez les rats Ctrl et les rats PSE. Pour obtenir du plasma, nous avons récupéré environ 2 mL de sang placés dans des tubes à hémolyse héparinés. Les échantillons de sang étaient ensuite centrifugés (4000 g, 10 minutes à  $4^{\circ}\text{C}$ ) et le plasma récupéré et congelé à  $-80^{\circ}\text{C}$ . Le dosage des catécholamines a été ensuite effectué au laboratoire de biologie intégrée du CHU de Grenoble.



## 6. Évaluation de l'implication du stress oxydant dans la fatigue cardiaque

Dans cette étude, nous avons évalué l'implication de la Nox dans la production de stress oxydant après EPP. Cette enzyme est connue pour engendrer un stress oxydant important au niveau cardiovasculaire (Murdoch *et al.*, 2006). De plus son activité est fortement augmentée dans le tissu myocardique à la suite d'un exercice (Sanchez *et al.*, 2008).

Pour évaluer le rôle de la Nox dans la production d'un stress oxydant en partie responsable de la fatigue cardiaque, nous avons réalisé un traitement *in vivo* des rats Ctrl et PSE avec l'inhibiteur bio-absorbable spécifique de la Nox : l'apocynine. La substance était administrée dans de l'eau de boisson à une concentration de 1,5 mmol.L<sup>-1</sup> pendant trois jours. À la suite du traitement, les rats PSE étaient soumis au même protocole de course de 4h sur tapis roulant à 60-65 % de VMA avec une pente à 0 %. La fonction cardiaque a été évaluée de manière *ex vivo* chez les rats Ctrl et PSE traités ou non à l'apocynine. En plus de l'évaluation de la fonction cardiaque avec ou sans inhibiteur de la Nox, nous avons mesuré de manière indirecte l'implication du stress oxydant par l'intermédiaire de différents dosages biochimiques.

Nous avons dosé la concentration de MDA (biomarqueur de peroxydation lipidique) par fluorimétrie (excitation à 515 nm et émission à 553 nm) et les concentrations de glutathion réduit (GSH) et oxydé (GSSG) par spectrophotométrie à 412 nm dans le tissu myocardique. Les dosages de GSH et GSSG, nous ont permis de calculer le rapport GSH / GSSG indicateur du statut redox intracellulaire.

## **7. Dosage des troponines I cardiaques dans le plasma**

Ce dosage a été effectué dans le laboratoire de biochimie du CHU de Nîmes par le Dr Anne Polge sur des échantillons de plasma congelés dans des tubes à hémolyse héparinés selon la même méthode de dosage utilisée dans l'étude n°2. Le seuil décisionnel pour le diagnostic du syndrome coronarien aigu était ici de  $0,044 \mu\text{g.L}^{-1}$  (seuil de sensibilité du test :  $0,010 \mu\text{g.L}^{-1}$ ).

## **8. Traitements statistiques**

Selon les études, les résultats étaient présentés sous la forme moyenne  $\pm$  écart-type ou S.E.M. Le traitement statistique a été réalisé à partir d'un logiciel spécifique (Statview 5.0, SAS Institute, Cary, NC, USA). Suivant les études et les objectifs à atteindre, des tests T de Student pour échantillons non appariés ainsi que des ANOVA à mesures répétées ont été utilisés. Des tests posthoc ont été utilisés quand cela s'est avéré nécessaire. L'étude des relations entre les variables a été réalisée à partir de régressions simples le cas échéant. Le seuil de significativité a été défini, pour toutes les analyses à  $P < 0,05$ .

# **Publications**

心

## **1. Étude n°1**

En cours de soumission dans « **Circulation : Cardiovascular Imaging** », impact facteur 2010: **4,757**.

**Speckle tracking echocardiography during exercise: new insights into depressed  
myocardial contractility after prolonged strenuous exercise**

Damien Vitiello<sup>1</sup>, MSC, Johan Cassirame<sup>2</sup>, MSC, Arnaud Menetrier<sup>2</sup>, MSC, Thomas Rupp<sup>3</sup>,  
PhD, Iris Schuster<sup>4</sup>, MD, Pr. Philippe Obert<sup>1</sup>, PhD, Nicolas Tordi<sup>2</sup>, PhD, and Stéphane Nottin<sup>1</sup>,  
PhD

<sup>1</sup> EA-4278, *Pharm-Ecologie Cardiovasculaire*, Faculty of Sciences, University of Avignon, France

<sup>2</sup> EA-3920, *Physiopathologie cardiovasculaire et prévention*, Faculty of Sport Sciences, Besançon, France

<sup>3</sup> *HP2 Laboratory*, (INSERM), Joseph Fourier University and Exercise Research Unit, University Hospital, Grenoble, France

<sup>4</sup> EA2992, *Dynamique des Incohérences Cardio-Vasculaire*, University Hospital Center, Nimes, France

Address for correspondence:

Dr NOTTIN Stéphane,

Mail: [stephane.nottin@univ-avignon.fr](mailto:stephane.nottin@univ-avignon.fr)

Laboratoire de Pharm-Écologie cardiovasculaire

Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse

33 Rue Louis Pasteur

84000 Avignon

**ABSTRACT**

*Background* - Prolonged strenuous exercise (PSE) such as marathon induces transient left ventricular (LV) dysfunctions. Whereas a consensus exists regarding the drop in diastolic function associated with a decrease in LV relaxation, whether PSE induces a drop in LV intrinsic contractility remains controversial. Of note, in previous studies, assessment were done at rest and immediately after PSE, a period characterized by persistent tachycardia and altered loading conditions that makes difficult conclusions regarding LV intrinsic contractility.

*Methods and Results* - Sixteen healthy young men ( $23 \pm 3$  years old) performed 3 hours of intensity controlled upright cycling. LV strains (S), systolic strain rates (SR), rotations and systolic rotational rates were evaluated by 2D-strain echocardiography before and after the 3 hours PSE at rest and also during an incremental exercise, post evaluation being done under similar heart rate (HR) and afterload than those achieved during pre evaluation. At rest, LV EF, mean S' wave were unchanged after PSE. LV systolic radial and circumferential SR remained unchanged and LV systolic longitudinal SR increased. During incremental exercise, all LV systolic SR and apical rotation, both less load-dependant indexes of LV contractility, were decreased after PSE. Our regression analysis between S', LV systolic longitudinal SR and HR showed lower Y-intercepts without differences in slopes suggesting decreased myocardial contractility irrespective of HR after PSE.

*Conclusions* – Our findings strongly support that PSE of moderate duration induces a decrease in global LV systolic function associated with a drop in intrinsic myocardial contractility.

**Key words:** 2D-Strain echocardiography, prolonged exercise, systolic dysfunction, myocardial contractility.

## INTRODUCTION

Although regular exercise has a protective effect on the cardiovascular system<sup>1,2</sup>, it was well-reported that prolonged and strenuous exercise (PSE), such as marathon or long-duration triathlon, induces transient left ventricular (LV) dysfunctions<sup>3-7</sup> associated in some subjects with plasma release of markers of cardiac damages<sup>8-10</sup>.

The impact of PSE on cardiac function depends on the duration and the intensity of the race<sup>11,12</sup>. After marathon, diastolic function is generally depressed (*i.e.* decrease in early and increase in atrial filling), probably due in part to a decrease in LV intrinsic relaxation properties<sup>3,5</sup>. However, the impact of such race on the systolic function remains controversial. Indeed, ejection fraction (EF), a global index of LV systolic function, either is depressed<sup>13,14</sup> or unchanged<sup>5,15,16</sup> after the race. Using tissue Doppler, George et al. (2006) did not find significant changes on longitudinal systolic tissue velocities, suggesting that LV contractility remained normal after marathon. Recently, speckle tracking echocardiography has been used to evaluate LV strains (S) and strain rates (SR). LV S and SR from all planes (*i.e.* longitudinal, radial and circumferential) was unchanged<sup>5,17</sup>. Taken together, these results strongly suggested that LV systolic function and intrinsic myocardial contractility remained normal after marathon.

Of note, all aforementioned studies evaluated systolic function within one hour of the race completion, a time characterized by a persistent tachycardia and altered loading conditions<sup>5,14,17</sup>. Interestingly, in experimental studies conducted in animals, when loading conditions and HR were normalized using an isolated and perfused heart model of Langendorff, LV intrinsic myocardial contractility, measured from the maximal instantaneous increase in LV pressure during systole ( $dp/dt_{max}$ ), was depressed after 4h running<sup>18</sup> or 5h

swimming<sup>19</sup>. In this context, we can reasonably question whether the persistent tachycardia and altered loading conditions of the heart observed immediately after the cessation of the marathon could mask a subtle decrease in LV intrinsic myocardial contractility.

Accordingly, the main objective of the present study was to evaluate the impact of a prolonged exercise on LV systolic function using a specific methodology to overcome the influence of transient tachycardia and altered loading conditions observed after exercise. The prolonged exercise consisted of 3 hours of pedaling on a cyclo-ergometer during which hydration was controlled. During pre and post evaluations, LV function was assessed not only at rest but also during incremental exercise, post evaluation being done under similar HR than those achieved during pre evaluation. Both at rest and during exercise, LV systolic function was assessed using conventional, tissue Doppler and also 2D-strain echocardiography (2D-SE), a new echocardiographic tool enables the evaluation of LV S and SR and allows for detection of subtle LV systolic dysfunction<sup>20, 21</sup>. We hypothesized that when cardiac function is evaluated at similar HR, PSE induces LV systolic dysfunction, associated with depressed myocardial contractility.

## **METHODS**

### *Subjects*

Sixteen young healthy males aged between 19 and 29 years participated in the study. Subjects were recruited at the University of Besançon, France. The subjects were all free from cardiac disease or arterial hypertension, and were not currently taking any medications. All



subjects were advised to abstain from hard training and alcohol or caffeine intake during the 48 h period prior to the first assessment. The protocol was approved by the local Ethic committee and all subjects gave written informed consent.

### *Study design*

The study design is depicted in figure 1. Briefly, after body height and mass assessments, maximal aerobic power was estimated *via* the Wasserman equation for the subject's age and body mass. After a 15-min resting period, each subject underwent a first progressive exercise test on a dedicated cyclo-ergometer in a semi-supine position (E-Bike ergometer, GE Healthcare, Horten, Norway). The progressive exercise included three workloads of 6 min at 20%, 30% and 40% of their maximal aerobic power (W1, W2, W3, respectively). The pedaling rate was kept constant at 70-80 rpm for all subjects. Then, each subject underwent a PSE consisting of 3 hours of controlled exercise on a standard cycloergometer in an upright position. After PSE, subjects recovered 30 min and then a second incremental exercise was done, during which each workload was adjusted to achieve similar HR to that observed during the first incremental exercise. For both pre- and post-PSE tests, cine loops were recorded at rest and during the last 4 minutes of each workload. Tissue Doppler and 2D-SE off-line analyses were conducted to assess less load-dependant indexes of LV contractility<sup>22, 23</sup>.

### *Prolonged strenuous exercise protocol*

All the subjects performed a PSE that consisted of 3 hours of cycling at HR > 130 beat.min<sup>-1</sup> on a standard cycloergometer. Cardiovascular adjustments during the PSE were evaluated at 5 minutes, 1, 2 and 3 hours of pedaling from the time-velocity integral (TVI) of the ascending aorta flow, using a Pedof (2 MHz, Esaote, Naples, Italy) positioned at the suprasternal notch (MyLab™30 echocardiograph, Esaote, Naples, Italy). HR, stroke volume (SV) and cardiac output (Q) were calculated off-line with the MyLab™ Desk software (Esaote, Naples, Italy). Systolic and diastolic blood pressures were assessed using manual sphygmomanometry. HR was continuously monitored with Suunto Memory Belt® (Suunto; Vantaa, Finland). All participants were required to eat and drink regularly during the PSE.

*Acquisition of echocardiographic data at rest and during incremental exercise before and after PSE*

Images were obtained at rest and during the incremental test using the Vivid 7 Dimension® apparatus (GE Healthcare, Horten, Norway). Cine loops were recorded from apical 4-chambers and parasternal short axis views. Care was taken to ensure that the basal short axis plane contained the mitral valve, and that the apical plane was acquired with the probe in a caudal position<sup>24</sup>. Two-dimensional grayscale harmonic images were obtained at a rate of 65 to 90 frames per second, and color tissue velocity images were acquired from an apical 4-chambers view at a rate of 120 to 140 frames per second. Images were acquired in cine loops triggered to the QRS complex and saved digitally for subsequent off-line analysis with dedicated software (EchoPac 6.0, GE Healthcare, Horten, Norway).

### *Standard and tissue Doppler analysis*

Peak early (E) and atrial (A) filling were assessed from apical 4-chamber view. The LV end-diastolic (EDD) and end-systolic (ESD) diameters were measured off-line in short axis loops recorded at the papillary muscle level, and the LV fractional shortening (FS) was calculated as  $FS = (EDD-ESD)/EDD*100$ . We assessed wall motion velocities from apical 4-chambers view (*i.e.* E', A' and S') at the mitral annulus level, and averaged the septal and lateral walls<sup>25</sup>. S' was considered as an index of global LV contractility<sup>23</sup>.

### *2D-SE analysis*

EchoPac™ software was used to assess regional LV function as previously described<sup>26</sup>. After manually tracing the endocardial border on the end-systolic frame of the 2D sequence, the software automatically tracked myocardial motions. Whenever the software signaled poor tracking efficiency, the observer readjusted the endocardial trace line and/or the region of interest width until a better tracking score could be obtained. Results were averaged on 3 to 5 cardiac cycles. LV longitudinal S and LV systolic longitudinal SR, a strong index of LV contractility<sup>27</sup>, were assessed using an apical 4-chamber view. Circumferential and radial S and their associated systolic SR were averaged from short-axis views at basal and apical levels. 2D-Strain data were then processed with a specific toolbox (Scilab 4.1, Consortium Scilab, INRIA-ENPC, Paris, France) developed in our laboratory. For temporal analysis, this software adjusted all strain variables for inter-subject differences in HR and transducer frame rate acquisition. The time sequence was normalized to the percentage of systolic and diastolic

duration (*i.e.* AVC representing 100% of systole and end of cardiac cycle representing 100% of diastole) using interpolations. After normalization, the software averaged each dataset from 3 to 5 cardiac cycles and performed the detection of peak strain, and their timing (expressed in percentage of systolic duration). Frame by frame evaluation of LV volume was performed using a dedicated toolbox. Coordinates of mid-wall points were exported with the “store full” functionality of Echopac software. End-diastolic wall thickness and instantaneous transversal  $S'$  were used to calculate coordinates of endocardial points from an apical 4-chamber view. LV volumes were then calculated using the monoplane Simpson’s method. Ejection fraction (EF) was calculated from end-diastolic and end systolic volumes.

#### *Statistical analysis*

The statistical analysis was performed using Statview 5.0 (SAS Institute Inc. Cary, USA). Pre- and post-PSE values from standard and 2D-SE were analyzed using a two-way repeated measures analysis of variance. Post-hoc tests were used when appropriate. Regression analysis between  $S'$ , LV systolic longitudinal SR and HR were also performed. Data were expressed as mean  $\pm$  SD, and statistical significance was assumed if  $P < 0.05$ . The authors had full access to the data and take full responsibility for the integrity of the data. All authors have read the manuscript, and agree with its contents.

## **RESULTS**

During the PSE, subjects drank a mean of  $420 \pm 25$  mL every 30 minutes. At the end of the PSE, body mass was not affected by exercise ( $71.7 \pm 7.8$  vs.  $71.4 \pm 7.5$  kg, NS). HR and SV adjustments during the PSE are presented in figure 2. Whereas HR increased regularly, SV decreased regularly.

**LV function during resting conditions.** Standard resting echocardiographic data before and after the race are presented in table 1. After PSE, arterial pressures and systemic vascular resistance (SVR) were decreased. All diastolic parameters (i.e. LV end-diastolic diameter, E wave and peak E' velocity from tissue Doppler evaluation) were lower after PSE compared to pre evaluation. SV was lower, but Q was higher due to tachycardia. EF and FS were also lower post PSE. However, S' from TDI evaluation remained unchanged. LV S and rotations are presented in table 2. LV S were significantly lower after PSE, except for radial S which did not reached statistical significance. LV systolic SR tended to be higher, but difference with pre evaluation reached statistical significance for LV longitudinal component only. LV basal rotation increased while apical rotation remained unchanged. LV peak systolic rotational rate decreased at the basal level after PSE and remained constant at the apical level.

**LV function during progressive exercise.** Echocardiographic data obtained during incremental tests performed before and after the PSE are presented in figure 3 and table 2. For each workload of exercise, no differences were observed on HR (in  $\text{beat}\cdot\text{min}^{-1}$ ) between pre and post incremental tests ( $97 \pm 14$  vs  $100 \pm 13$  at W1,  $109 \pm 13$  vs  $108 \pm 14$  at W2 and  $120 \pm 14$  vs  $119 \pm 14$  at W3, NS). Similar results was observed on SVR ( $5.8 \pm 0.8$  vs  $5.9 \pm 0.9$  at W1,  $5.4 \pm 0.9$  vs  $5.3 \pm 0.8$  at W2 and  $4.9 \pm 0.8$  vs  $4.9 \pm 0.8$  at W3, NS), underlying therefore that during incremental evaluations performed before and after PSE, echocardiographic data were obtained under similar HR and afterload. However, to reach this goal, power (in W), adjusted for each subject during post test, were significantly lower when compared to workloads of

exercise during pre-test ( $49 \pm 5$  vs  $12 \pm 14$  at W1,  $75 \pm 9$  vs  $29 \pm 18$  at W2 and  $100 \pm 13$  vs  $52 \pm 19$  at W3, NS).

The kinetics of SV, EF and FS from rest to W3 exercise were unchanged after PSE. Thus, since these global systolic parameters were decreased in resting condition, they were also decreased during W3 after PSE. Similar results were observed on the kinetics of LV S from rest to W3. Thus, except for mean LV radial peak S value, all LV S values were decreased during W3 after PSE (Table 2). However, the kinetics of peak S' from tissue Doppler and of LV systolic SR were altered after PSE. Indeed, the increase during incremental exercise were lower after PSE and consequently, peak S' and peak systolic SR, both index of LV intrinsic contractility were lower during W3 after PSE. An example of an individual drop in LV peak systolic basal radial SR during W3 is presented in figure 4. Moreover, our results indicated also that kinetics of LV basal and apical rotational rates were similar during both incremental tests. At the apical level, rotational rate was lower at rest and remained lower during incremental test compared to values observed before PSE.

Regression analysis between S', LV systolic longitudinal SR and HR obtained at rest and during incremental exercise pre and post PSE are presented in figure 5. For both parameters, no differences in slopes were obtained. However, significantly lower y-intercepts during post-PSE were obtained for both parameters, indicating that whatever HR, LV peak S' from tissue Doppler and LV systolic longitudinal SR were decreased after PSE.

## DISCUSSION

The main objective of the present study was to evaluate whether a PSE of 3 hours induced a LV systolic dysfunction. To overcome the influence of transient tachycardia and altered loading conditions observed immediately after PSE, during pre and post evaluations, LV function was assessed not only at rest but also during incremental exercise, post evaluation being done under similar HR than those achieved during pre evaluation. Our results highlighted that when HR and SVR were normalized, LV systolic dysfunction occurred, associated with a decrease in less load-dependant indexes of LV myocardial intrinsic properties.

#### *Controversial decrease in LV intrinsic myocardial contractility after PSE at rest*

It well documented that PSE of several hours induced a transient diastolic dysfunction. Our results confirmed these data since after 3 hours of pedaling, all diastolic parameters from standard, tissue Doppler and speckle tracking echocardiography were decreased after the race. However, after such exercise, whether a transient LV systolic dysfunction occurs remained controversial<sup>5, 13-16</sup>. In our study, SV, EF, and LV longitudinal and circumferential S were lower after the PSE, a result similar to those obtained in previous studies after marathon<sup>13, 14, 28</sup>. Of note, EF and LV strains depend on numerous factors and did not reflect LV intrinsic myocardial contractility. In the heart, contractility of the myocardium can be defined as the maximal velocity of myocardial fibers shortening<sup>29</sup>, and the gold standard for *in vivo* evaluation of intrinsic myocardial contractility in humans is  $dp/dt_{max}$ . However, the use of invasive techniques is precluded in healthy subjects. In the present study, S' wave from TDI evaluation and LV peak longitudinal systolic SR from 2D-SE were considered as strong indexes of LV contractility<sup>23, 27</sup>. Contrary to global evaluation of systolic function, our results

showed that peak  $S'$  and LV peak systolic SR remained unchanged. Similar results were observed recently after marathon<sup>5</sup> or 2 hours of cycling<sup>30</sup>. Using speckle tracking echocardiography, we measured also LV apical rotation, which correlates well with  $dp/dt_{max}$ <sup>22</sup>. Of note, LV apical rotation was unchanged but basal rotation increased significantly after PSE. Based on these results obtained at rest, it is unclear whether LV contractile dysfunction occurred after PSE.

### *LV systolic dysfunction is associated with depressed myocardial contractility after PSE*

After marathon, previous studies evaluated systematically systolic function within one hour of the race completion, a time characterized by a persistent tachycardia and altered loading conditions<sup>5, 14, 17</sup>. Thus, in the present study, we questioned whether the persistent tachycardia and altered loading conditions of the heart observed immediately after the cessation of the marathon could mask a subtle decrease in LV intrinsic myocardial contractility. To overcome these limitations, first, subjects were invited to drink regularly during PSE to avoid dehydration and thus preload alteration. Secondly, during pre and post evaluations, LV function was assessed not only at rest but also during incremental exercise, post evaluation being done under similar HR than those achieved during pre evaluation. Using such experimental design, HR was similar during W1, W2 and W3 workloads of pre and post incremental tests. SVR, an overall index of LV afterload was also similar.

Under such standardized conditions, SV, EF and also LV longitudinal and circumferential S remained decreased after PSE. Recently, Seo et al (2010) observed a stronger association between  $dp/dt_{max}$  and  $S'$  than between  $dp/dt_{max}$  and EF. Interestingly, the kinetics of  $S'$  velocity from tissue Doppler and were depressed after the race. Although  $S'$



remained normal during resting conditions, they were depressed at W3 compared to pre-race values, suggesting thus a decrease in intrinsic myocardial contractility during effort. Similar results were observed on all peak LV systolic SR from 2D-SE since SR of all components were depressed after PSE at W3. Of note, apical rotation assessed by STE represents another effective noninvasive index of global LV contractility and is more closely related to  $dp/dt_{max}$  than EF<sup>22</sup>. Whereas LV apical rotation was higher during resting conditions, its increase during effort was significantly lower after PSE, and values tended to be lower at W3 (despite values did not reach statistical significance). All together, these data strongly supported that, under standardized HR and loading conditions of the heart, a PSE of 3 hours induced a decrease in myocardial intrinsic contractility.

Our regression analysis with  $S'$ , LV systolic longitudinal SR and HR demonstrated decreased Y-intercepts without differences in slopes. These findings suggested that myocardial contractility was depressed regardless of HR, *i.e.* not only during submaximal exercise testing but also at rest. They highlighted that the absence of LV systolic dysfunction observed in previous studies after marathon<sup>5, 13-16</sup> was probably due to the influence of transient tachycardia and altered loading conditions observed immediately after PSE. During the recovery period, circulating catecholamines remained higher, increasing not only HR, but also LV contractility by their positive inotropic effect. These myocardial dysfunctions observed in the present study confirmed in humans those observed in study using an isolated and perfused rat heart model<sup>18, 31</sup>. The underlying mechanisms remain to be explored, but could include  $\beta$ -adrenergic receptor desensitization<sup>32</sup>, increased oxidative stress<sup>18, 33, 34</sup> and reduced  $Ca^{2+}$  transients<sup>35</sup>.

## **CONCLUSION**

Our specific methodology based on echocardiography evaluations during incremental exercise indicated that a prolonged and strenuous exercise induced a transient decrease in LV systolic function. Assessment of new less load-dependant indexes of LV contractility based on tissue Doppler and speckle tracking echocardiography indicated that these LV dysfunctions were associated with depressed intrinsic myocardial contractility. These new findings confirmed those obtained in experimental studies in animals in which HR and loading conditions were normalized after exercise. The long-term consequences of such transient myocardium abnormalities after repetitive prolonged exercise are unknown and represent an important issue for future investigations.

## FIGURES LEGENDS

**Figure 1: Detailed study design.** HR: heart rate ; W: Workload ; Echo: echocardiographic acquisitions.

**Figure 2: Changes in heart rate and stroke volume during the prolonged strenuous exercise.** Significant differences with values assessed at 5min: \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\*  $P < 0.001$ .

**Figure 3: Kinetics of parameters of LV systolic function obtained during incremental tests before and after the prolonged strenuous exercise.** W: Workload. Data corresponding to the pre-test are represented with the continuous black line and those corresponding to the post-test kinetics with scattered line. Significant differences with pre-test values: \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$  and between workloads: §§  $P < 0.01$ ; §§§  $P < 0.001$ .

**Figure 4: Exemplar colour traces for LV systolic strain rates displayed across the cardiac cycle before (left) and after (right) PSE in a subject with major reduction in mean LV peak systolic basal radial strain rates during workload 3 of the incremental exercise.** HR: heart rate; SR: Strain Rate.

**Figure 5: Regression analysis between  $S'$ , LV systolic longitudinal SR and HR.**  $R^2$ : coefficient of determination. The symbols (white circle : pre-test; black circle : post-test) represents data points from individual athletes.

**Table 1: LV standard echocardiographic data assessed at rest and during workload 3 of incremental exercise before and after PSE.**

	Rest		Incremental exercise (W3)	
	Before PSE	After PSE	Before PSE	After PSE
<b>Morphological parameters</b>				
LV end-diastolic diameter (mm)	53.4 ± 4.8	51.6 ± 4.6 <sup>***</sup>	53.9 ± 4.7	51.7 ± 4.9 <sup>***</sup>
LV end-systolic diameter (mm)	34.7 ± 4.1	34.4 ± 3.6	31.0 ± 5.2 <sup>§§§</sup>	32.0 ± 4.6 <sup>*§§§</sup>
<b>Global diastolic function</b>				
Peak E velocity (cm.s <sup>-1</sup> )	78.4 ± 14.7	69.8 ± 13.8 <sup>***</sup>	124 ± 21 <sup>§§§</sup>	107 ± 22 <sup>***§§§</sup>
Peak A velocity (cm.s <sup>-1</sup> )	40.1 ± 7.4	48.6 ± 7.1	103 ± 28 <sup>§§§</sup>	97.9 ± 28.4 <sup>§§§</sup>
Peak E/A ratio	2.12 ± 0.59	1.53 ± 0.51 <sup>***</sup>	1.26 ± 0.15 <sup>§§</sup>	1.03 ± 0.03 <sup>***§§§</sup>
Peak E/E' ratio	8.3 ± 1.5	7.7 ± 1.8 <sup>*</sup>	9.7 ± 2.3 <sup>§§§</sup>	8.7 ± 2.1 <sup>*§§§</sup>
<b>Global systolic function</b>				
Ejection fraction (%)	59.2 ± 7.4	55.1 ± 8.2 <sup>**</sup>	67.7 ± 6.9 <sup>§§§</sup>	64.3 ± 8.2 <sup>**§§§</sup>
Fractional shortening (%)	35.1 ± 3.7	33.5 ± 2.5 <sup>***</sup>	42.7 ± 6.4 <sup>§§§</sup>	37.9 ± 4.9 <sup>***§§§</sup>
Heart rate (beat.min <sup>-1</sup> )	64 ± 13	81 ± 15 <sup>***</sup>	120 ± 14 <sup>§§§</sup>	119 ± 14 <sup>§§§</sup>
Stroke volume (mL)	111 ± 21	101 ± 21 <sup>***</sup>	133 ± 30 <sup>§§§</sup>	120 ± 27 <sup>***§§§</sup>
Cardiac output (L.min <sup>-1</sup> )	6.7 ± 1.5	7.9 ± 1.1 <sup>**</sup>	15.3 ± 2.6 <sup>§§§</sup>	14.0 ± 2.4 <sup>***§§§</sup>
AVC (ms)	359 ± 44	349 ± 39	239 ± 39	249 ± 33
<b>Arterial pressures</b>				
Systolic (mmHg)	122 ± 7	116 ± 7 <sup>**</sup>	148 ± 9 <sup>§§§</sup>	133 ± 10 <sup>***§§§</sup>
Diastolic (mmHg)	70 ± 7	67 ± 6 <sup>*</sup>	71 ± 7	68 ± 5 <sup>*</sup>
Systemic vascular resistances (A.U.)	9.9 ± 2.2	7.9 ± 1.1 <sup>**</sup>	4.9 ± 0.8 <sup>§§§</sup>	4.9 ± 0.8 <sup>§§§</sup>
<b>TDI assessments</b>				
Peak E' (cm.s <sup>-1</sup> )	11.2 ± 1.3	10.4 ± 1.8 <sup>*</sup>	15.7 ± 1.8 <sup>§§§</sup>	15.3 ± 2.3 <sup>*§§§</sup>
Peak A' (cm.s <sup>-1</sup> )	4.9 ± 2.2	5.3 ± 1.2	10.5 ± 2.8	9.3 ± 1.6
Peak S' (cm.s <sup>-1</sup> )	8.6 ± 1.2	8.4 ± 0.9	13.1 ± 0.7 <sup>§§§</sup>	11.1 ± 1.7 <sup>**§§§</sup>

LV: Left Ventricle; IVRT: Isovolumic Relaxation Time; AVC : Aortic Valve Closure. Significant differences with pre-test values: \* P < 0.05; \*\* P < 0.01; \*\*\* P < 0.001. Significant differences with resting values: §§ P < 0.01; §§§ P < 0.001. Values are expressed ± standard deviation.

**Table 2: LV strains, strain rates, rotations and rotational rates assessed at rest and during workload 3 of incremental exercise before and after PSE.**

	Rest		Incremental exercise (W3)	
	Before PSE	After PSE	Before PSE	After PSE
<i>LV strains</i>				
<b>Longitudinal</b>				
<i>Strain (%)</i>	-16.1 ± 2.2	-15.0 ± 2.7**	-18.7 ± 2.1§§§	-17.3 ± 3.1**§§§
Systolic strain rate ( $s^{-1}$ )	-0.89 ± 0.15	-0.98 ± 0.10*	-1.52 ± 0.22§§§	-1.42 ± 0.27*§§§
<b>Radial</b>				
<i>Strain (%)</i>	32.8 ± 5.3	25.9 ± 7.3	37.1 ± 13.8	34.3 ± 7.1§
Systolic strain rate ( $s^{-1}$ )	1.27 ± 0.26	1.42 ± 0.28	2.21 ± 0.12§§§	1.87 ± 0.10**§§§
<b>Circumferential</b>				
<i>Strain (%)</i>	-22.5 ± 3.7	-20.6 ± 3.9***	-29.4 ± 4.8§§§	-25.6 ± 4.8***§§§
Systolic strain rate ( $s^{-1}$ )	-1.34 ± 0.27	-1.53 ± 0.29	-2.54 ± 0.12§§§	-2.30 ± 0.14*§§§
<i>LV rotations</i>				
<b>Basal level</b>				
<i>Rotation (deg)</i>	-3.8 ± 1.4	-5.1 ± 1.5**	-7.2 ± 1.9§§	-6.4 ± 2.1§§
Systolic rotational rate ( $deg.s^{-1}$ )	-58 ± 18	-58 ± 36	-92 ± 27§§§	-93 ± 27§§§
<b>Apical level</b>				
<i>Rotation (deg)</i>	6.6 ± 1.9	5.9 ± 1.7	9.3 ± 1.8§§	7.4 ± 1.0***§§
Systolic rotational rate ( $deg.s^{-1}$ )	87 ± 11	71 ± 15*	128 ± 28§§§	105 ± 26*§§§

LV: Left Ventricle. Strains data are presented as mean ± SD percentage of myocardial state change between protodiastole state and end diastole state. Significant differences with pre-test values: \* P < 0.05; \*\* P < 0.01; \*\*\* P < 0.001 and with resting values: § P < 0.05; §§§ P < 0.001. Values are expressed ± standard deviation.

FIGURE 1 : detailed study design.

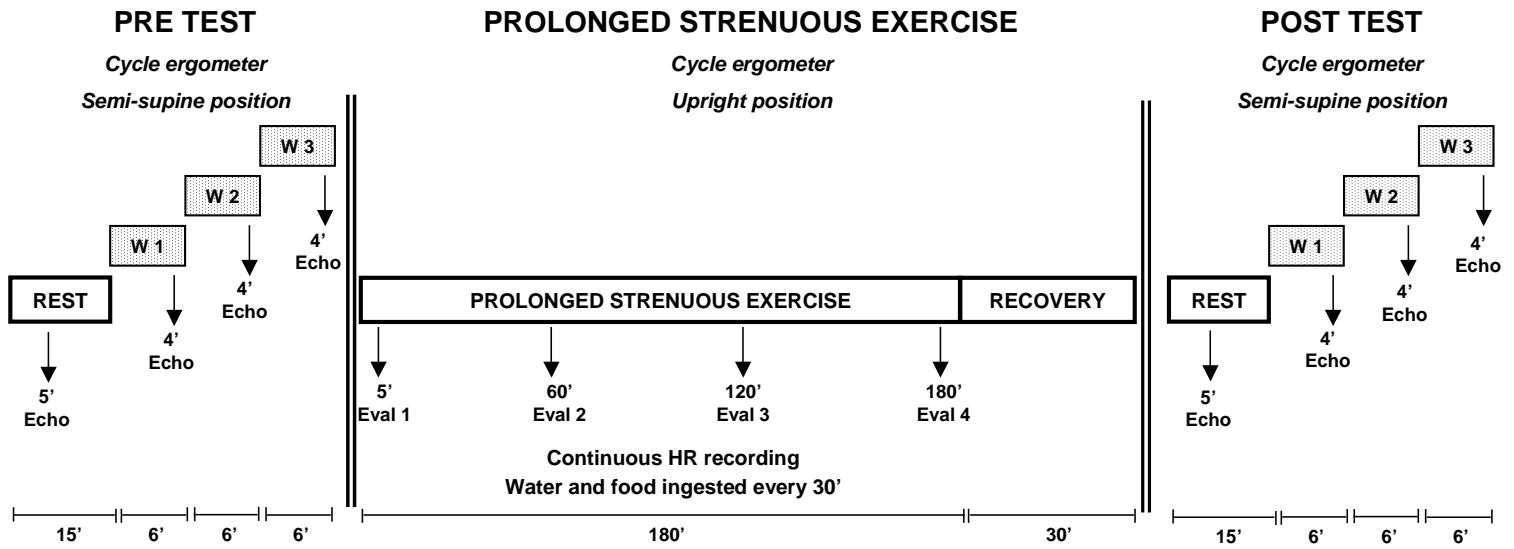
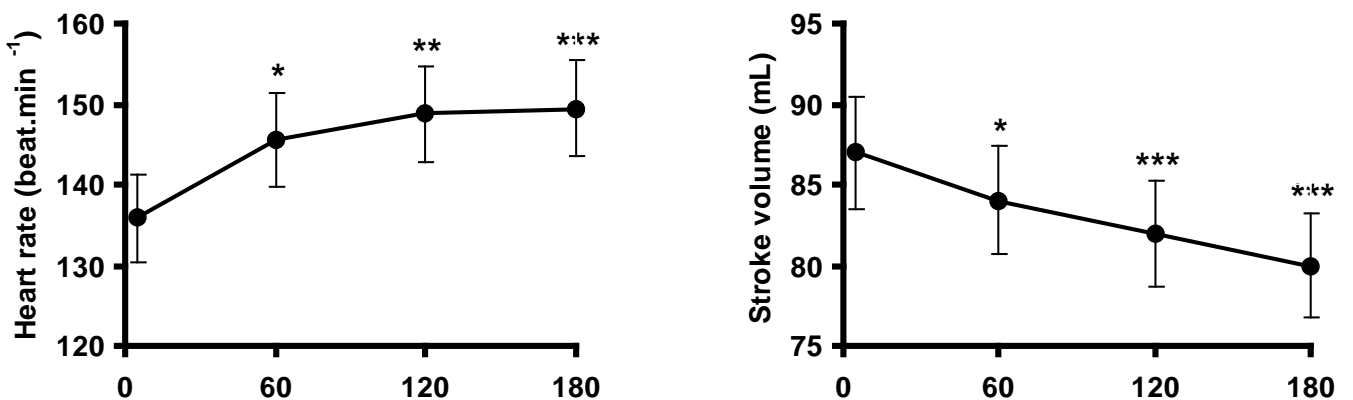
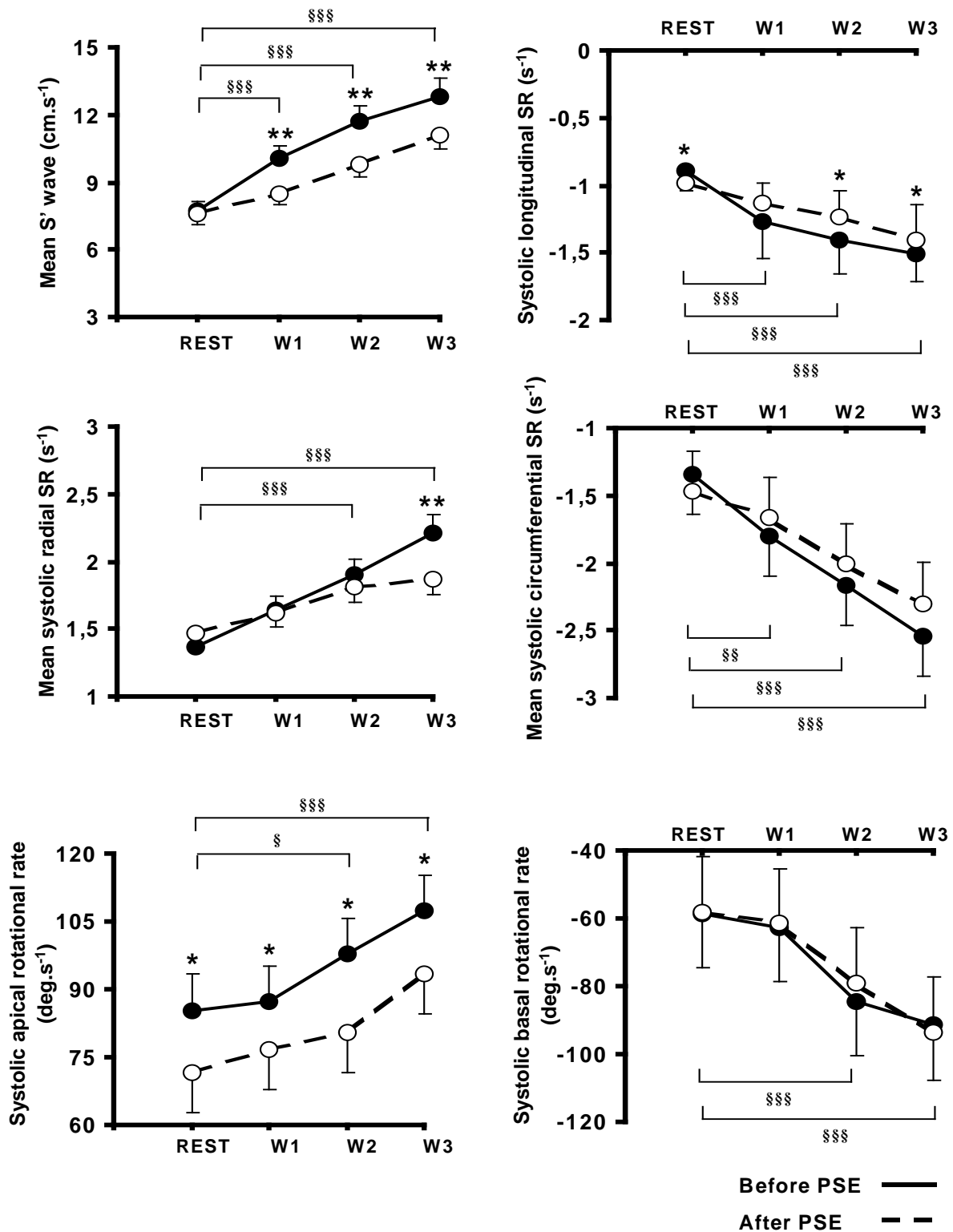


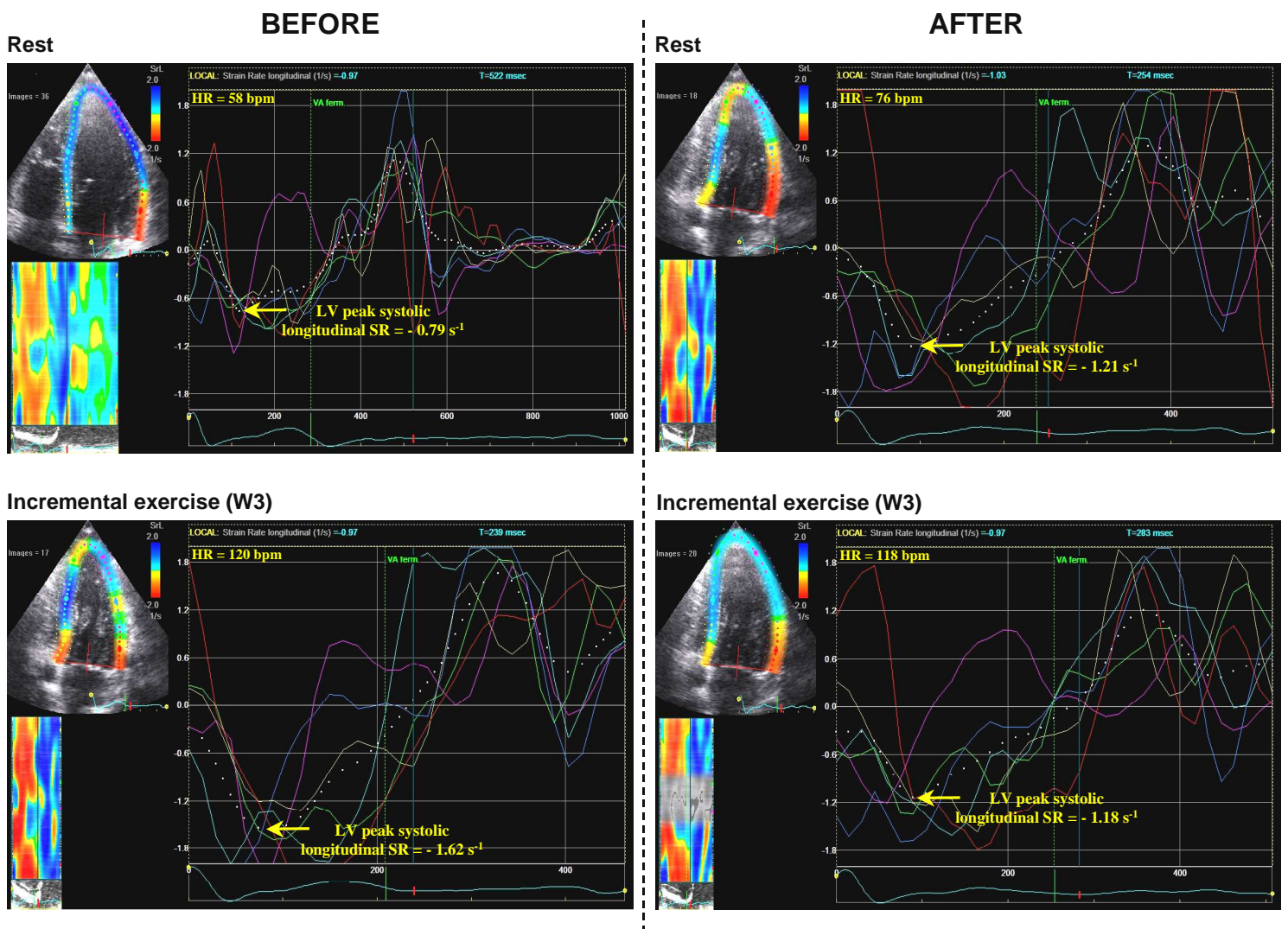
FIGURE 2: changes in heart rate and stroke volume during the prolonged strenuous exercise.



**FIGURE 3:** kinetics of parameters of LV systolic function obtained during incremental tests before and after the prolonged strenuous exercise.

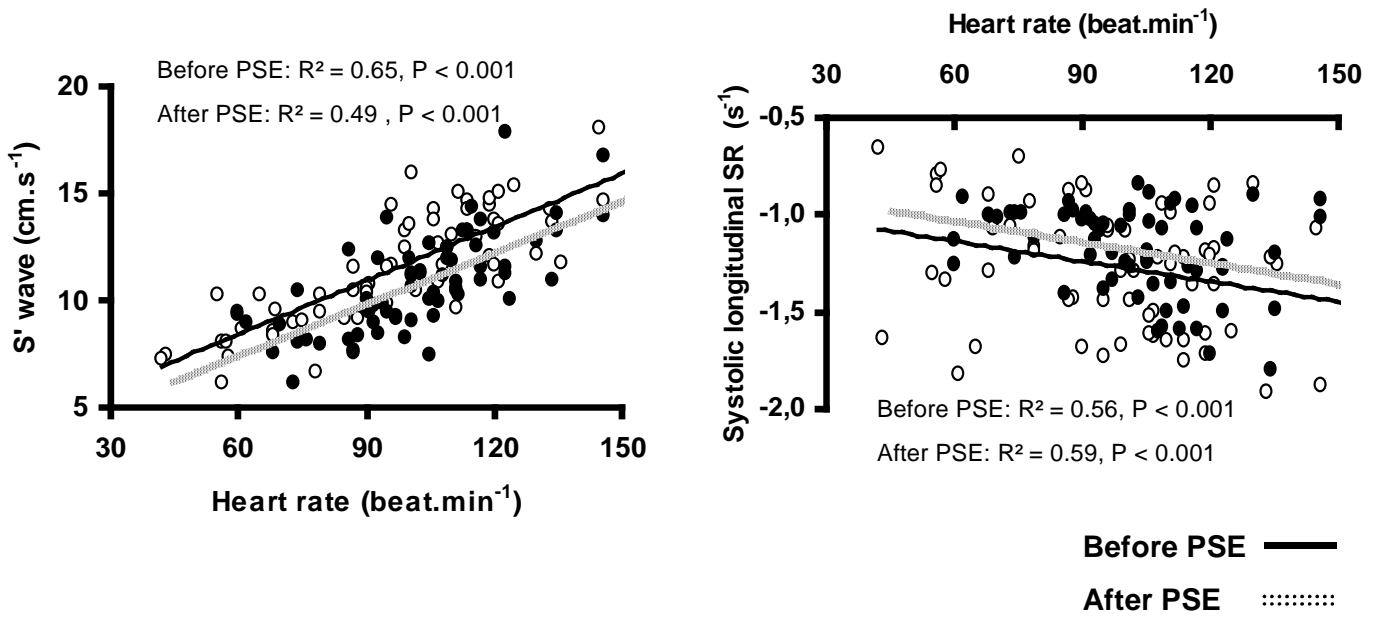


**FIGURE 4:** exemplar colour traces for LV systolic strain rates displayed across the cardiac cycle before (left) and after (right) PSE in a subject with major reduction in mean LV peak systolic basal radial strain rates during workload 3 of the incremental exercise.





**FIGURE 5: regression analysis between S', LV systolic longitudinal SR and HR.**



## REFERENCES

1. Warburton DE, Nicol CW, Bredin SS. Health benefits of physical activity: the evidence. *CMAJ*. 2006;174(6):801-809.
2. Owen A, O'Donovan G, Bird S. Sedentary, active and athletic lifestyles: right and left ventricular long axis diastolic function. *Int J Cardiol*. 2008;127(1):112-113.
3. George K, Oxborough D, Forster J, Whyte G, Shave R, Dawson E, Stephenson C, Dugdill L, Edwards B, Gaze D. Mitral annular myocardial velocity assessment of segmental left ventricular diastolic function after prolonged exercise in humans. *J Physiol*. 2005;569(Pt 1):305-313.
4. Whyte G, George K, Shave R, Dawson E, Stephenson C, Edwards B, Gaze D, Oxborough D, Forster J, Simson R. Impact of marathon running on cardiac structure and function in recreational runners. *Clin Sci (Lond)*. 2005;108(1):73-80.
5. Dawson EA, Whyte GP, Black MA, Jones H, Hopkins N, Oxborough D, Gaze D, Shave RE, Wilson M, George KP, Green DJ. Changes in vascular and cardiac function after prolonged strenuous exercise in humans. *J Appl Physiol*. 2008;105(5):1562-1568.
6. Neilan TG, Januzzi JL, Lee-Lewandrowski E, Ton-Nu TT, Yoerger DM, Jassal DS, Lewandrowski KB, Siegel AJ, Marshall JE, Douglas PS, Lawlor D, Picard MH, Wood MJ. Myocardial injury and ventricular dysfunction related to training levels among nonelite participants in the Boston marathon. *Circulation*. 2006;114(22):2325-2333.
7. Oxborough D, Shave R, Middleton N, Whyte G, Forster J, George K. The impact of marathon running upon ventricular function as assessed by 2D, Doppler, and tissue-Doppler echocardiography. *Echocardiography*. 2006;23(8):635-641.
8. George K, Whyte G, Stephenson C, Shave R, Dawson E, Edwards B, Gaze D, Collinson P. Postexercise left ventricular function and cTnT in recreational marathon runners. *Med Sci Sports Exerc*. 2004;36(10):1709-1715.
9. Middleton N, George K, Whyte G, Gaze D, Collinson P, Shave R. Cardiac troponin T release is stimulated by endurance exercise in healthy humans. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52(22):1813-1814.
10. Shave R, Baggish A, George K, Wood M, Scharhag J, Whyte G, Gaze D, Thompson PD. Exercise-induced cardiac troponin elevation: evidence, mechanisms, and implications. *J Am Coll Cardiol*. 2008;56(3):169-176.
11. Middleton N, Shave R, George K, Whyte G, Hart E, Atkinson G. Left ventricular function immediately following prolonged exercise: A meta-analysis. *Med Sci Sports Exerc*. 2006;38(4):681-687.
12. Oxborough D, Birch K, Shave R, George K. "Exercise-induced cardiac fatigue"--a review of the echocardiographic literature. *Echocardiography*. 2007;27(9):1130-1140.
13. Banks L, Sasson Z, Busato M, Goodman JM. Impaired left and right ventricular function following prolonged exercise in young athletes: influence of exercise intensity and responses to dobutamine stress. *J Appl Physiol*. 2008;108(1):112-119.
14. Hart E, Dawson E, Rasmussen P, George K, Secher NH, Whyte G, Shave R. Beta-adrenergic receptor desensitization in man: insight into post-exercise attenuation of cardiac function. *J Physiol*. 2006;577(Pt 2):717-725.
15. Dawson EA, Shave R, Whyte G, Ball D, Selmer C, Jans O, Secher NH, George KP. Preload maintenance and the left ventricular response to prolonged exercise in men. *Exp Physiol*. 2007;92(2):383-390.
16. Hanssen H, Keithahn A, Hertel G, Drexel V, Stern H, Schuster T, Lorang D, Beer AJ, Schmidt-Trucksass A, Nickel T, Weis M, Botnar R, Schwaiger M, Halle M. Magnetic resonance imaging of myocardial injury and ventricular torsion after marathon running. *Clin Sci (Lond)*. 2008;120(4):143-152.

17. George K, Shave R, Oxborough D, Cable T, Dawson E, Artis N, Gaze D, Hew-Butler T, Sharwood K, Noakes T. Left ventricular wall segment motion after ultra-endurance exercise in humans assessed by myocardial speckle tracking. *Eur J Echocardiogr.* 2009;10(2):238-243.
18. Vitiello D, Boissiere J, Doucende G, Gayraud S, Polge A, Faure P, Goux A, Tanguy S, Obert P, Reboul C, Nottin S.  $\beta$ -adrenergic receptors desensitization is not involved in exercise-induced cardiac fatigue: NADPH oxidase-induced oxidative stress as a new trigger. *J Appl Physiol.*
19. Venditti P, Masullo P, Di Meo S. Effects of myocardial ischemia and reperfusion on mitochondrial function and susceptibility to oxidative stress. *Cell Mol Life Sci.* 2001;58(10):1528-1537.
20. Amundsen BH, Helle-Valle T, Edvardsen T, Torp H, Crosby J, Lyseggen E, Stoylen A, Ihlen H, Lima JA, Smiseth OA, Slordahl SA. Noninvasive myocardial strain measurement by speckle tracking echocardiography: validation against sonomicrometry and tagged magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol.* 2006;47(4):789-793.
21. Helle-Valle T, Crosby J, Edvardsen T, Lyseggen E, Amundsen BH, Smith HJ, Rosen BD, Lima JA, Torp H, Ihlen H, Smiseth OA. New noninvasive method for assessment of left ventricular rotation: speckle tracking echocardiography. *Circulation.* 2005;112(20):3149-3156.
22. Kim WJ, Lee BH, Kim YJ, Kang JH, Jung YJ, Song JM, Kang DH, Song JK. Apical rotation assessed by speckle-tracking echocardiography as an index of global left ventricular contractility. *Circ Cardiovasc Imaging.* 2009;2(2):123-131.
23. Seo JS, Kim DH, Kim WJ, Song JM, Kang DH, Song JK. Peak systolic velocity of mitral annular longitudinal movement measured by pulsed tissue Doppler imaging as an index of global left ventricular contractility. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 298(5):H1608-1615.
24. van Dalen BM, Vletter WB, Soliman OI, ten Cate FJ, Geleijnse ML. Importance of transducer position in the assessment of apical rotation by speckle tracking echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2008;21(8):895-898.
25. Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC, Marino PN, Oh JK, Smiseth OA, Waggoner AD, Flachskampf FA, Pellikka PA, Evangelista A. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2009;22(2):107-133.
26. Nottin S, Doucende G, Schuster I, Tanguy S, Dauzat M, Obert P. Alteration in left ventricular strains and torsional mechanics after ultralong duration exercise in athletes. *Circ Cardiovasc Imaging.* 2009;2(4):323-330.
27. Greenberg NL, Firstenberg MS, Castro PL, Main M, Travaglini A, Odabashian JA, Drinko JK, Rodriguez LL, Thomas JD, Garcia MJ. Doppler-derived myocardial systolic strain rate is a strong index of left ventricular contractility. *Circulation.* 2002;105(1):99-105.
28. Neilan TG, Yoerger DM, Douglas PS, Marshall JE, Halpern EF, Lawlor D, Picard MH, Wood MJ. Persistent and reversible cardiac dysfunction among amateur marathon runners. *Eur Heart J.* 2006;27(9):1079-1084.
29. Bombardini T. Myocardial contractility in the echo lab: molecular, cellular and pathophysiological basis. *Cardiovasc Ultrasound.* 2005;3:27.
30. Goodman JM, Busato GM, Frey E, Sasson Z. Left ventricular contractile function is preserved during prolonged exercise in middle-aged men. *J Appl Physiol.* 2009;106(2):494-499.
31. Wonders KY, Hydock DS, Hayward R. Time-course of changes in cardiac function during recovery after acute exercise. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2007;32(6):1164-1169.
32. Hart E, Shave R, Middleton N, George K, Whyte G, Oxborough D. Effect of preload augmentation on pulsed wave and tissue Doppler echocardiographic indices of diastolic function after a marathon. *J Am Soc Echocardiogr.* 2007;20(12):1393-1399.

33. MacFarlane NG, Miller DJ. Depression of peak force without altering calcium sensitivity by the superoxide anion in chemically skinned cardiac muscle of rat. *Circ Res.* 1992;70(6):1217-1224.
34. Sanchez G, Escobar M, Pedrozo Z, Macho P, Domenech R, Hartel S, Hidalgo C, Donoso P. Exercise and tachycardia increase NADPH oxidase and ryanodine receptor-2 activity: possible role in cardioprotection. *Cardiovasc Res.* 2008;77(2):380-386.
35. O'Rourke B, Kass DA, Tomaselli GF, Kaab S, Tunin R, Marban E. Mechanisms of altered excitation-contraction coupling in canine tachycardia-induced heart failure, I: experimental studies. *Circ Res.* 1999;84(5):562-570.

## 2. Étude n°2

En cours de soumission dans « **European Heart Journal** », impact facteur 2010: **10,046**.

**Left and right ventricular mechanics and myocardial damages after completing an extreme mountain ultra-marathon.**

Brief title: Myocardial mechanics and damages after ultra-long duration exercise.

Total number of words: 6600

This work was done without any relationships with industry

Damien Vitiello\*<sup>1</sup>, Thomas Rupp\*<sup>2</sup>, PhD, Guillaume Millet<sup>3</sup>, PhD, Paul Robach<sup>2,4</sup>, PhD, Jean-Louis Bussière<sup>5</sup>, MD and Stéphane Nottin<sup>1</sup>, PhD

<sup>1</sup> EA-4278, Laboratoire de Pharm-Écologie Cardiovasculaire, Faculty of Sciences, University of Avignon, France

<sup>2</sup> HP2 INSERM Laboratory, Joseph Fourier University and Exercise Research Unit, University Hospital, Grenoble, France

<sup>3</sup> EA-4338, Exercise Physiology Laboratory, Lyon University, Faculty of Medicine, Saint-Etienne, France

<sup>4</sup> Research center: Biomedical Laboratory, National School of Ski and Mountaineering, Chamonix, France

<sup>5</sup> Cardiovascular readaptation center: Private Hospital of Châtillon, Châtillon, France

\*both authors participated equally to the work

Address for correspondence

Dr NOTTIN Stéphane,

Mail: [stephane.nottin@univ-avignon.fr](mailto:stephane.nottin@univ-avignon.fr)

Laboratoire de Pharm-Écologie cardiovasculaire,

33 Rue Louis Pasteur, University of Avignon,

84000 Avignon

Tel: +334 901 629 34 / Fax: +334 901 629 01

**ABSTRACT**

**Aims** - To describe comprehensively the acute cardiovascular consequences of an ultra-long duration (>24h) running exercise called the North Face® Ultra-Trail du Mont-Blanc (UTMB®).

**Methods and results** - Twenty one well-trained endurance men ( $42 \pm 8$  years old) performed the 166 km of the UTMB®. LV strains (S), systolic strain rates (SR), rotations, torsions and RV longitudinal S and SR were evaluated by 2D-strain echocardiography before and after the UTMB®. These evaluations were associated with cTnI, blood and plasma volumes assessments and heart monitoring during the race. The UTMB® induced an increase in cTnI concentration in the overall population and in 7 athletes above the cut-off level of myocardial infarction risk ( $0.030 \mu\text{g/L}$ ). There was a significant correlation between cTnI elevation and finishin time suggesting that cTnI release depended of the intensity of exercise. LV SR were unchanged or increased and blood and plasma volumes were respectively 11% and 21% expanded after the race when compared to pre race. Although LV dysfunctions did not occurred after the UTMB®, RV dysfunctions occurred characterised by diastolic ( $2.45 \pm 0.79$  vs.  $1.77 \pm 0.51$ ,  $P < 0.05$ ) and systolic ( $-2.17 \pm 0.85$  vs.  $-1.37 \pm 0.45$ ,  $P < 0.01$ ) longitudinal SR decrease. These dysfunctions were associated with RV dilation in the population of athletes with elevated cTnI.

**Conclusions** - Our findings strongly support that ultra-long duration exercise like the UTMB® induces myocardial damages in some runners, associated with RV but not LV dysfunctions.

**Key words:** 2D-Strain echocardiography, ultra-long duration exercise, cTnI, blood and plasma volumes.

## INTRODUCTION

It was well-described that running a marathon (1-6) or a long-distance triathlon (7-10) induces transient left and right ventricular (LV and RV, respectively) dysfunction after the race (*i.e.* range of 3 to 15 hours exercising), associated in some subjects with an increase in biomarkers of cardiac damage (11-14). Since several years, extreme endurance events (*e.g.* ultra-marathon, ultra-trail) characterised by much longer durations (*i.e.* >24h) become very popular. However, despite more and more athletes participate in these races, few informations are available about the potential cardiovascular alterations induced by such events.

The alteration of the cardiovascular system after exercise depends on an interplay between numerous factors. It depends on exercise duration (15, 16) and for a same duration, on exercise intensity (17, 18). Since very long-duration exercises are characterised by low exercise intensities, we can reasonably raise the question of myocardial damage after such races. For instance, there is a higher incidence of post-exercise cardiac troponin (cTn) in marathon-type events in contrast to ultra-marathon competitions. There is an inverse relationship between event duration and cTn elevation mightly because shorter races are generally performed at higher exercise intensities (18, 19). In addition, LV function could also be affected by changes in cardiac loading conditions after exercise (20, 21). Indeed, due to persistent vasodilation decreasing arterial pressures, afterload is generally lower after 4 to 10-h races (10, 22). Further, several previous studies have reported diminished indexes of preload (*e.g.* end-diastolic volume) (10, 23), while acute blood and plasma volumes (BV and PV, respectively) expansions have been reported after very-long duration exercise (24). Such results underline the difficulty to understand how cardiac function might be affected by loading conditions after prolonged exercise. However, data regarding the cardiovascular alterations after ultra-long duration exercise, especially using new advances in



echocardiography, are scattered, and their relations with changes in loading conditions remain to be explored.

Accordingly, the main objective of this study was to describe comprehensively the acute cardiovascular consequences of an ultra-long duration (>24h) running exercise. To achieve this, we used conventional, tissue doppler imaging (TDI) and speckle tracking echocardiography to investigate participants to a 166-km mountain ultra-marathon (*i.e.* 2009 North Face® Ultra-Trail du Mont-Blanc® - UTMB®) run on two days for most of them. 2D-strain echocardiography as a new less-load dependent echocardiographic tool focuses on myocardial function since it enables LV strains and torsion to be evaluated non-invasively (25, 26). Exercise intensity was evaluated by heart rate monitoring during the race, while cardiac troponin I, and blood and plasmatic volumes were assessed before and immediately after the race. We hypothesized that the UTMB® would induce specific cardiac alterations.

## **METHODS**

### **Participants**

Twenty one well-trained male athletes aged between 26 to 59 years participated in the study (mean of  $42 \pm 8$  yrs old). Thirty-three subjects were initially recruited but only 21 were able to complete the UTMB®. All the subjects were experienced ultra-marathon runners. On average, they had  $13.3 \pm 9.7$  years of training history in running and  $5.0 \pm 4.3$  years of ultra-endurance experience. All subjects underwent a medical examination and a maximal test to determine maximal O<sub>2</sub> uptake (VO<sub>2</sub>max: mean of  $54 \pm 4$  mL/min/kg) as described elsewhere (27). They were all free of medications, and none of the subjects had clinical evidence or personal history of cardiac disease or arterial hypertension. All of them were advised to

abstain from hard training and alcohol or caffeine during the 48 h before the first assessment. The protocol was approved by the local Ethic committee and all subjects gave written informed consent.

### **The 166 km UTMB<sup>®</sup> track**

The North Face<sup>®</sup> Ultra-Trail du Mont-Blanc<sup>®</sup> is a continuous 166 km race which takes place in August in the Mont-Blanc valley across three countries (France, Italy, Switzerland). About 2500 participants took part to the race around the highest peak in Western Europe (Mont-Blanc) ranging from 800 to 2500 m of altitude with a total of 9500 m of cumulative vertical ascent. A detailed description of the race profile is given elsewhere (27). The time limit for finishing the race is set at 46 h. To minimize volume depletion, dehydration and hypoglycemia, all participants are permitted to consume food and fluid *ad libitum* during the race.

### **General protocol**

Participants underwent assessments of LV and RV functions, blood and plasma volumes and cardiac biomarkers in systemic circulation 1) 2 or 3 days before the race and 2) after the race (mean 2 h 33 ± 41 min after passing the finish line for transthoracic echocardiography). Systolic and diastolic blood pressures (SBP and DBP, respectively) were assessed using manual sphygmomanometry. Heart rate (HR) and altitude were continuously monitored with Garmin<sup>®</sup> belt and transducer (Garmin Forerunner 310XT, Olathe, KS, USA) from the beginning to the end of the race in sixteen of the twenty one subjects.

### **Echocardiographic data acquisition**

All subjects underwent echocardiographic evaluations after the UTMB<sup>®</sup> including standard echocardiography, tissue Doppler imaging and 2D-strain echocardiography. Images were obtained in the left lateral decubitus position using a commercially available system (Vivid Q, GE Healthcare, Horten, Norway) with a 3.5-MHz sector scanning electronic transducer. Two-dimensional grayscale harmonic images were obtained at a rate of 60 to 75 frames per second, and color tissue velocity images were acquired at a rate of 120 to 140 frames per second. Images were acquired in cine loops triggered to the QRS complex and saved digitally for subsequent off-line analysis with dedicated software (EchoPac 6.0, GE Healthcare).

### **Standard echocardiography**

M-mode measurements were obtained in the parasternal long-axis view, according to the recommendations of the American Society of Echocardiography (28). The LV end-diastolic volume (EDV) and end-systolic volume (ESV) were assessed from the apical 2 and 4-chamber views. The LV ejection fraction (EF) was calculated from LV volumes (*i.e.*  $EF = (EDV - ESV) / EDV * 100$ ). The left atrium (LA) end-diastolic diameter and area were obtained from M-mode measurements. The RV and right atrium area were assessed on an apical 4-chamber view. The RV fractional area change was calculated with the following formula :  $(RV \text{ end-diastolic area} - RV \text{ end-systolic area}) / (RV \text{ end-diastolic area}) * 100$ . The tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE) estimates RV systolic function by measuring the level of systolic excursion of the lateral tricuspid valve annulus towards the

apex in the 4-chamber view. Pulsed Doppler LV and RV inflows (E and A waves) and pulmonary venous flow (S, D and A waves) were recorded from the apical 4-chamber view. Stroke volume (SV) was calculated as the product of the aortic root area and the integral of the aortic blood flow velocity curve recorded from a 5-chamber view.

### **Tissue Doppler imaging**

Color cine loops were recorded in the apical 4-chamber view. We assessed wall motion spectral velocities from apical 4-chamber view (*i.e.*  $E_m$ ,  $A_m$  and  $S_m$ ) at the mitral annulus level, and we averaged data from septal and lateral walls (29). For the RV, we assessed wall motion spectral velocities at the tricuspid annulus level on the free-wall.

### **2D-Strain echocardiography**

EchoPac™ software (EchoPac 6.0, GE Healthcare, Horten, Norway) was used to assess regional LV function as previously described (9, 30). After manually tracing the endocardial border on the end-systolic frame of the 2D sequence, the software automatically tracked myocardial motions. Whenever the software signaled poor tracking efficiency, the observer readjusted the endocardial trace line and/or the region of interest width until a better tracking score could be obtained. Results were averaged on 3 to 5 cardiac cycles. LV longitudinal strain (S) and strain rates (SR) were assessed using an apical 4-chambers view. Circumferential, radial S and SR and LV rotations and rotational rates were assessed from short-axis views at basal and apical levels. Net LV twist was calculated as the instantaneous difference between LV apical and LV basal rotations. RV longitudinal S and SR were assessed on the free wall, from an apical 4-chambers view. 2D-Strain data were processed

with a dedicated toolbox (Scilab 4.1, Consortium Scilab, INRIA-ENPC, Paris, France) developed in our laboratory. For temporal analysis, this software adjusted all strain variables for inter-subjects differences in HR and transducer frame rate acquisition. The time sequence was normalized to the percentage of systolic and diastolic durations using interpolations (*i.e.* AVC representing 100% of systole and end of cardiac cycle representing 100% of diastole duration). After normalization, the software averaged each data from 3 to 5 cardiac cycles and performed the detection of peak strains events and their timing (expressed in percentage of systolic duration).

### **Biochemical analysis**

Peripheral venous blood samples were taken from an antecubital vein of participants before and immediately after completing the UTMB<sup>®</sup>. Some samples served for haematological analysis and other were centrifuged (1000 g, 10 min at 4°C) and stored at -20 °C for further analysis of cTnI in serum.

*Cardiac troponin I assessments.* cTnI were measured out as a marker of myocardial cell damage. Serum samples, assay diluent and troponin I antibody-coated paramagnetic microparticules were combined. After incubation and wash, anti-cTnI acridinium-labeled conjugate was added. Then after another incubation and wash, pre-trigger and trigger solutions were then added to the reaction mixture. The resulting chemiluminescent reaction was measured as relative light units (RLUs) with the Architect<sup>®</sup> i system optic (ARCHITECT STAT Troponin-I Regent Kit). The concentration of cTnI was read relative to a standard curve established with calibrators of known cTnI concentrations. The 99<sup>th</sup> percentile for normal subjects is 0.01 µg/L. The cut-off point providing 10% coefficient of variation in this

assay is 0.03  $\mu\text{g/L}$ , which represents the conventional upper limit of normal and acute myocardial infarction cutoff level (31).

*Blood and plasma volumes.* As previously described (32) BV and PV were derived from haemoglobin concentration ([Hb]), haematocrit (Hct) and total haemoglobin mass (tHb), which was quantified by a modified (33) version of a carbon monoxide (CO)-re-breathing method (34) pre and post race in all subjects. Briefly, after the subjects had stayed for 20 min in a semi-recumbent position, a 2-mL blood sample was obtained from an antecubital vein for immediate determination of percent carboxyhaemoglobin (%HbCO) and [Hb] in triplicate for each measurement on a hemoximeter (ABL700; Radiometer, Copenhagen, Denmark). Hct was determined after the samples were centrifugated 4 min at 13500 rpm. The subjects then breathed 100% O<sub>2</sub> for 2 min to flush nitrogen from airways, before being switched to the re-breathing circuit. A body-size related bolus of CO (1.25 mL/kg, 99.997% chemically pure, Linde gases, Pullach, Germany) was then added to the closed circuit and the subjects re-breathed for 8 min. Then, just before the subject was disconnected, another similarly obtained and analysed 2-mL blood sample was withdrawn. The change in %HbCO between the first and second measurement was used to calculate tHb, taking into account the amount of CO remaining in the rebreathing circuit at the end of the procedure (2.2%) (34). Previous works using the same technique indicate that the mean error of the measurement is about 2.5% (32, 35).

### **Statistical analysis**

The statistical analysis was performed using Statview 5.0 (SAS Institute Inc. Cary, USA). Pre- and post-UTMB<sup>®</sup> values for echocardiographic and biochemical data were

analyzed using a one-way repeated measures analysis of variance. Data were expressed as mean  $\pm$  SD, and statistical significance was assumed if  $P < 0.05$ . The authors had full access to the data and take full responsibility for the integrity of the data. All authors have read and agree to the manuscript as written.

## RESULTS

### The 166 km UTMB<sup>®</sup> track

The average finishing time of the 21 subjects was  $38 \pm 5$  h. All levels of performance were represented in the studied group, as shown by the ranks ranging from 71<sup>st</sup> to 1380<sup>th</sup> place (out of 1384 finishers). Mean HR recorded during the race was  $118 \pm 15$  bpm. 98% of the race duration was run with HR below the anaerobic threshold. An example of HR recording along the race in one subject is presented in *Figure 1*. Of note, the HR decrease regularly during the race. Despite all subjects ingested food and water regularly, the body mass decreased from  $73.7 \pm 6.4$  kg to  $73.0 \pm 5.9$  kg ( $P < 0.05$ ) after the UTMB<sup>®</sup>. SBP decreased from  $115 \pm 7$  mmHg to  $109 \pm 9$  mmHg ( $P < 0.05$ ) and DBP remained unchanged (from  $71 \pm 8$  mmHg to  $71 \pm 4$  mmHg, NS). SVR, an index of afterload was also depressed after the race (from  $17 \pm 4$  mmHg to  $12 \pm 3$  mmHg,  $P < 0.001$ ).

### cTnI assessments

The effect of UTMB<sup>®</sup> on cTnI serum concentration is depicted in *Figure 2*. The concentration of cTnI in serum was increased after the race (from  $0.010 \pm 0.001$   $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  to  $0.038 \pm 0.055$   $\mu\text{g}/\text{L}$ ,  $P < 0.05$ ). Cardiac troponin I was undetectable in all athletes at baseline.

After the race, seven of the twenty one athletes (*i.e.* 33%) had a significant increase in cTnI above the cutoff level of myocardial infarction risk (*i.e.*  $> 0.03 \mu\text{g/L}$ ). Major increase in cTnI were observed in the best participants, and significant correlations were found between cTnI increase and finishing time on pre-post delta values ( $R^2 = 0.36$ ,  $P < 0.05$ ).

### **Blood and plasma volumes assessments**

The effect of UTMB® on BV and PV is presented in *Figure 3*. We observed an average increase in PV of 21% (from  $3310 \pm 425 \text{ mL}$  to  $3981 \pm 487 \text{ mL}$ ,  $P < 0.001$ ) and an average increase in BV of 11% (from  $6025 \pm 410 \text{ mL}$  to  $6751 \pm 546 \text{ mL}$ ,  $P < 0.001$ ). They were associated with a marked hemodilution following the race suggested by the large decreases in hematocrit (from  $44.6 \pm 1.5\%$  to  $39.6 \pm 1.6\%$ ,  $P < 0.001$ ), and haemoglobin concentrations (from  $14.8 \pm 0.8 \text{ g/dL}$  to  $13.4 \pm 0.7 \text{ g/dL}$ ,  $P < 0.001$ ). No significant correlations were found between PV or BV expansion and finishing time.

### **Left ventricular function**

LV echocardiographic data of the overall study population are presented in *Table 1*. LV volumes and LA diameters and areas were unchanged after the race. LV global diastolic function was enhanced after the race, whereas systolic function was unchanged. From TDI evaluation, peak  $A_m$  and  $S_m$  increased whereas peak  $E_m$  remained unchanged. LV strains and torsion are presented in *Table 2*. LV S and torsion did not change after the race, except radial apical strain which was increased. LV longitudinal and apical radial diastolic and systolic SR were higher after the race. An example of a drop in LV longitudinal strain of one participant with elevated post-race cTnI level (after the race) is presented in *Figure 4*.



### Right ventricular function

RV echocardiographic data are presented in Table 3. In the overall population, RV annular end-diastolic diameter, RA end-diastolic area and peak  $E_m$  recorded at the free wall level were increased after the race, whereas other parameters did not change significantly. The increase in RA was correlated to finishing times, the lower finishing times corresponding to the higher increase in RA end-diastolic area. RV strains and SR are presented in Table 4. Both strains and systolic and diastolic SR were unchanged after the race.

When considering only the seven subjects with elevated post-race cTnI level, results indicated higher RV basal end-diastolic diameters (Table 3). Moreover, FAC was decreased, associated with a drop in RV longitudinal strain and systolic and diastolic SR (Table 4).

### DISCUSSION

The main objective of the present study was to evaluate the acute cardiovascular consequences of an ultra-long duration running exercise (*i.e.* >24h). We evaluated LV and RV functions by 2D-strain echocardiography, cTnI concentrations and BV and PV before and after the UTMB<sup>®</sup>, one of the worldwide most famous extreme mountain ultra-marathon and probably one of the hardest performed in competition. Despite the race was ran at a moderate intensity because of the ultra-long duration of exercise, we observed a BV expansion of 11% and an increase in cTnI above the cutoff level of myocardial infarction risk, in 33% of the subjects. No LV and RV dysfunctions were observed after the race in the overall population. However, the population with elevated cTnI presented dysfunctions characterised by RV dilation associated with RV drop in longitudinal SR.

***The UTMB<sup>®</sup> induced an increase in cTnI concentrations***

The majority of the studies have reported the appearance of cTnI after prolonged endurance exercises such as marathons or “Ironman” triathlons (8, 36, 37) suggesting that strenuous and/or prolonged exercise (*i.e.* 4 to 15h) was able to cause myocardial damage. However, few information are available about the release of cTnI after ultra-marathons. Davilà-Roman *et al.* (1997) reported a slight elevation of cTnI in a normal range in all runners after a 163-km high altitude mountain run (38). Others showed undetectable levels of cTnI after a 216-km ultra-endurance marathon (approximately 60h running in a hot environment) (39) or elevated levels of cTnI in 20% of the athletes after a 160-km ultra-marathon (mean of  $25.5\text{h} \pm 3.2\text{h}$ ) (40). After the UTMB<sup>®</sup>, cTnI concentrations were increased, and interestingly seven of the twenty one athletes (33%, *Figure 2*) presented concentrations above the cutoff level of myocardial infarction risk. Our results confirmed that extreme endurance events could induce myocardial damages in some subjects. Of note, we showed significant correlations between cTnI increase and finishing time, higher increases being observed in the faster athletes. This result suggested that cTnI release could be linked to exercise intensity, a finding also observed by others (17, 18, 41).

***Absence of LV dysfunction after The UTMB<sup>®</sup>***

Although LV dysfunctions were well-described after marathon or triathlon, few data are available concerning LV dysfunctions following ultra-long duration exercise exceeding one day running. After the UTMB<sup>®</sup>, we observed unchanged or increased diastolic and systolic LV functions as suggested by an increase in peak A and E waves velocities and an increase in cardiac output. However, these conventional echocardiographic parameters were

dependent of several factors after exercise such as tachycardia and alterations in cardiac loading, precluding any objective conclusion of the cardiovascular consequences of such ultralong-duration exercise. Indeed, after the race, we observed an expected persistent tachycardia, a major expansion of BV and PV, and a decrease in SVR, an overall index of systemic vascular resistances. To overcome these limitations, we used 2D-strain echocardiography which allowed evaluation of less-load dependent indexes of myocardial function since it enabled LV strains and diastolic and systolic SR to be evaluated (19, 25, 26). Interestingly, we observed unchanged LV S except for radial apical S which was increased. We observed also an increase in LV diastolic and systolic SR except for circumferential and rotational rates after the UTMB<sup>®</sup>. Of note, similar results were obtained when considering only the 7 runners with high post-race cTnI concentrations. Taken together, our results based on 2D-strain echocardiography showed unchanged or even improved LV function after an extreme mountain ultra-long duration running exercise, and that increased cTnI was not associated with a drop in LV function. Previous studies reported LV diastolic and systolic dysfunctions after such exercise (42-44). More recent studies using 2D-strain echocardiography demonstrated unchanged or decreased diastolic and systolic functions after a race of 160 km (40) or 161 km (45). The discrepancies of the results of these studies and our data could be due to the specificity of the race, ran in high altitude and in a cold environment. The training level of our subjects that limit LV subtle transient dysfunctions after the race as observed elsewhere (38) and/or the moderate intensity of running in the second half of the race as presented in the *Figure1* could explain the absence of LV dysfunctions after such ultra-long duration exercise.

*The UTMB<sup>®</sup> induced RV dysfunctions in the population of athletes with elevated cTnI*

The functional adaptations of the RV following long-duration exercise remains not fully understood. Several previous studies demonstrated RV dysfunctions after marathons (4) or “Ironman” triathlons (8) characterized by a decrease in the RV FAC associated with a drop in peak  $E_m$  velocity of the RV free wall. In the present study, the RV FAC tended to be lower after the UTMB<sup>®</sup>, but did not reached statistical significance. However, a major result of our study was that RV dysfunctions was observed in the population of athletes with post-race elevated cTnI level. Indeed, in this specific population we found a RV enlargement characterized by an increase in basal RV end-diastolic diameters. The assessment of RV function with conventional echocardiography is limited in accuracy because of the ventricle geometry, location and structure irregularities (46). To overcome these limitations, we used 2D-strain echocardiography to evaluated RV longitudinal S and SR which are considered as reliable measures for RV myocardial function (47). Whereas in the overall population of the study RV S and SR were unchanged, they were depressed after the UTMB<sup>®</sup> in subjects exhibited post-race high level of cTnI concentration. Thus, our results confirmed RV alterations after such ultra-long duration exercise reported elsewhere (38, 45) and strongly supported the fact that RV myocardial dysfunctions occurred after exercise. However, we failed to demonstrate any correlation between RV dilation, RV function parameters and finishing time or cTnI, suggesting that RV dilation might not be implicated in RV dysfunctions after the UTMB<sup>®</sup>.

#### *Potential underlying mechanisms of the RV dysfunctions observed after the UTMB<sup>®</sup>*

Some authors proposed that increased pulmonary hypertension and thus increased RV afterload could explain the RV dysfunctions (38, 45) observed after ultra-long duration exercise. We measured right atrium end-systolic and end-diastolic areas and found an increase

in the right atrium size at end-diastole after the UTMB<sup>®</sup>. Interestingly, we demonstrated a significant correlation between RA end-diastolic area and finishing time in the overall population suggesting that right atrial enlargement was accentuated with exercise intensity. Of note, the pressure gradient between the RV and the right atrium tended to be greater after the race ( $P = 0.06$ ). As proposed by others (38), an increase in the pressure gradient between the RV and the right atrium induced by an elevation in pulmonary arterial pressure could contribute to right atrial dilation. However, this remains speculative and the underlying mechanisms of RV dysfunctions following ultra-long duration exercise need further studies to be explored.

## CONCLUSION

Our study evaluated the acute cardiovascular effects of an extreme mountain ultra-long duration exercise using conventional echocardiography, Doppler tissue imaging and 2D-strain echocardiography associated with cTnI and blood and plasma volumes assessments. Our results showed that the UTMB<sup>®</sup> induced myocardial damages in some runners, associated with RV but not LV dysfunctions. Interestingly, blood and plasma volumes expansion were observed after the race but no correlations were found with changes in RV parameters. Assessment of new less load-dependant indexes of RV myocardial function based on 2D-strain echocardiography indicated that these RV dysfunctions were characterised by depressed systolic and diastolic longitudinal strain rates in the population of athletes exhibiting elevated cTnI above the cutoff level of myocardial infarction risk. However, the long-term consequences of such acute RV remodeling after repetitive ultra-long duration exercise are unknown and represent an important issue for future investigations.

## FIGURES LEGENDS

**Figure 1: Characteristics of the UTMB<sup>®</sup> track.** A: example of heart rate recording in one subject along the race illustrating the intensity of the effort. B and C graphics depicts the altitude profil and the distance of the UTMB<sup>®</sup> track.

**Figure 2: Measures of cardiac troponin I before and after the UTMB<sup>®</sup> running demonstrating a post-race increment of this biomarker in the serum.** Significant differences with pre- race values: \*  $P < 0.05$ .

**Figure 3: Blood and plasma volumes measures before and after the UTMB<sup>®</sup> running demonstrating a post-race expansion in both.** Significant differences with pre- race values: \*\*\*  $P < 0.001$ .

**Figure 4: Exemplar colour traces for RV longitudinal strain displayed across the cardiac cycle before (left) and after (right) the UTMB<sup>®</sup> running in a subject with major reduction in RV peak longitudinal strain post-race.**

Table 1 - Standard and tissue Doppler echocardiography of left atrium and ventricle.

	Pre race	Post race
<b>LV morphological parameters</b>		
LV end-diastolic volume (mL)	182 ± 27	181 ± 21
LV end-systolic volume (mL)	84.3 ± 13.6	87.1 ± 13.3
LA end-diastolic diameter (mm)	3.27 ± 0.42	3.33 ± 0.39
LA end-diastolic area (cm <sup>2</sup> )	18.0 ± 4.1	18.2 ± 3.9
<b>LV global diastolic function</b>		
Peak E velocity (cm/s)	68.1 ± 12.4	74.2 ± 11.7**
Peak A velocity (cm/s)	48.1 ± 9.7	55.6 ± 11.8**
Peak E/A ratio	1.46 ± 0.34	1.37 ± 0.22
<b>Pulmonary venous flow</b>		
Peak S velocity (cm/s)	42.8 ± 5.7	43.9 ± 12.0
Peak D velocity (cm/s)	53.9 ± 6.8	46.2 ± 13.0
Peak A velocity (cm/s)	20.3 ± 1.3	22.6 ± 2.1*
<b>LV global systolic function</b>		
Ejection fraction (%)	53.4 ± 4.9	52.0 ± 4.3
Heart rate (bpm)	55 ± 11	68 ± 11***
Stroke volume (mL)	100 ± 24	107 ± 21
Cardiac output (L/min)	5.3 ± 1.3	7.2 ± 1.6***
<b>LV Tissue Doppler</b>		
Mean peak E <sub>m</sub>	10.2 ± 2.1	9.9 ± 1.3
Mean peak A <sub>m</sub>	3.7 ± 0.4	7.2 ± 1.2***
Mean peak S <sub>m</sub>	7.6 ± 0.9	8.6 ± 1.1**

LA = left atrium, LV = left ventricle.

Significantly different with pre-race values: \*P < 0.05; \*\*P < 0.01; \*\*\*P < 0.001.

**Table 2 - Left ventricle peak strains, strain rates, rotation and rotational rates during systole and diastole before and after the race.**

	Pre race	Post race
<i>LV strains and torsion</i>		
Longitudinal strain (%)	-19.6 ± 2.4	-20.0 ± 2.2
Radial strain (%)		
Basal level	50.5 ± 15.1	53.8 ± 14.3
Apical level	32.7 ± 15.1	53.2 ± 14.6***
Circumferential strain (%)		
Basal level	-19.4 ± 4.0	-19.5 ± 4.0
Apical level	-22.6 ± 5.5	-21.6 ± 4.9
Rotation (deg)		
Basal level	-3.5 ± 2.1	-2.8 ± 1.8
Apical level	6.1 ± 2.9	6.3 ± 2.4
Torsion (deg)	8.1 ± 3.9	7.0 ± 3.1
<i>LV systolic strain and rotational rates</i>		
Longitudinal strain rates (/s)	-1.06 ± 0.15	-1.13 ± 0.15*
Radial strain rates (/s)		
Basal level	1.76 ± 0.38	1.80 ± 0.31
Apical level	1.29 ± 0.33	1.80 ± 0.49***
Circumferential strain rates (/s)		
Basal level	-1.14 ± 0.25	-1.24 ± 0.25
Apical level	-1.30 ± 0.35	-1.31 ± 0.29
Rotational rates (deg/s)		
Basal level	-58 ± 17	-60 ± 14
Apical level	69 ± 21	70 ± 23
Twisting rates (deg/s)	63 ± 23	61 ± 19
<i>LV diastolic strain and rotational rates</i>		
Longitudinal strain rates (/s)	1.38 ± 0.38	1.55 ± 0.26*
Radial strain rates (/s)		
Basal level	-2.03 ± 0.50	-2.23 ± 0.68
Apical level	-1.91 ± 0.54	-2.38 ± 0.77*
Circumferential strain rates (/s)		
Basal level	1.71 ± 0.54	1.77 ± 0.50
Apical level	1.94 ± 0.71	1.91 ± 0.61
Rotational rates (deg/s)		
Basal level	69 ± 22	70 ± 17
Apical level	-56 ± 14	-61 ± 20
Untwisting rates (deg/s)	-78 ± 32	-86 ± 30

LV = left ventricle.

Significantly different from pre-race values: \*  $P < 0.05$ , \*\*\*  $P < 0.001$ .



**Table 3 - Standard and tissue Doppler echocardiography of right atrium and ventricle of the overall population and the elevated (*i.e.* > 0.030 µg/L) post-race cTnI population.**

	Overall population: n = 21		Population with elevated cTnI : n = 7	
	Pre race	Post race	Pre race	Post race
<b>RV Morphological parameters</b>				
RV annular end-diastolic diameter (mm)	3.68 ± 0.47	3.32 ± 0.77*	3.71 ± 0.33	3.82 ± 0.42
RV basal end-diastolic diameter (mm)	4.22 ± 0.51	3.94 ± 0.76	4.13 ± 0.29	4.44 ± 0.33*
RV end-diastolic area (cm <sup>2</sup> )	22.0 ± 3.0	20.6 ± 4.4	22.0 ± 3.2	23.0 ± 4.1
RV end-systolic area (cm <sup>2</sup> )	10.1 ± 2.5	10.1 ± 2.8	10.2 ± 3.1	11.5 ± 2.8
RA end-diastolic area (cm <sup>2</sup> )	18.5 ± 3.7	20.8 ± 3.9**	19.7 ± 5.4	22.2 ± 5.1
<b>RV global diastolic function</b>				
Peak E velocity (cm/s)	51.0 ± 8.2	51.5 ± 8.8	50.6 ± 4.2	51.3 ± 8.1
Peak A velocity (cm/s)	31.0 ± 6.2	34.1 ± 6.3	31.5 ± 8.6	34.3 ± 6.0
Peak E/A ratio	1.73 ± 0.31	1.56 ± 0.37	1.68 ± 0.36	1.55 ± 0.40
<b>RV global systolic function</b>				
FAC (%)	54.6 ± 10.1	50.9 ± 6.3	53.9 ± 11.3	50.1 ± 5.1
T.A.P.S.E.	2.53 ± 0.40	2.57 ± 0.33	2.76 ± 0.45	2.64 ± 0.44
Pressure gradient	16.8 ± 5.6	21.1 ± 4.8	17.7 ± 6.2	22.9 ± 5.5
<b>RV Tissue Doppler (RV free wall)</b>				
Peak E <sub>m</sub>	14.5 ± 2.6	16.2 ± 2.3**	14.0 ± 2.1	15.8 ± 3.2
Peak A <sub>m</sub>	12.2 ± 2.8	14.1 ± 3.6*	13.3 ± 2.6	14.3 ± 3.9
Peak S <sub>m</sub>	14.9 ± 2.5	15.9 ± 1.9	14.9 ± 2.7	16.5 ± 1.1

FAC = fractional area change, RA = right atrium, RV = right ventricle, TAPSE = tricuspid annular plane systolic excursion.

Significantly different from pre-race values: \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ .

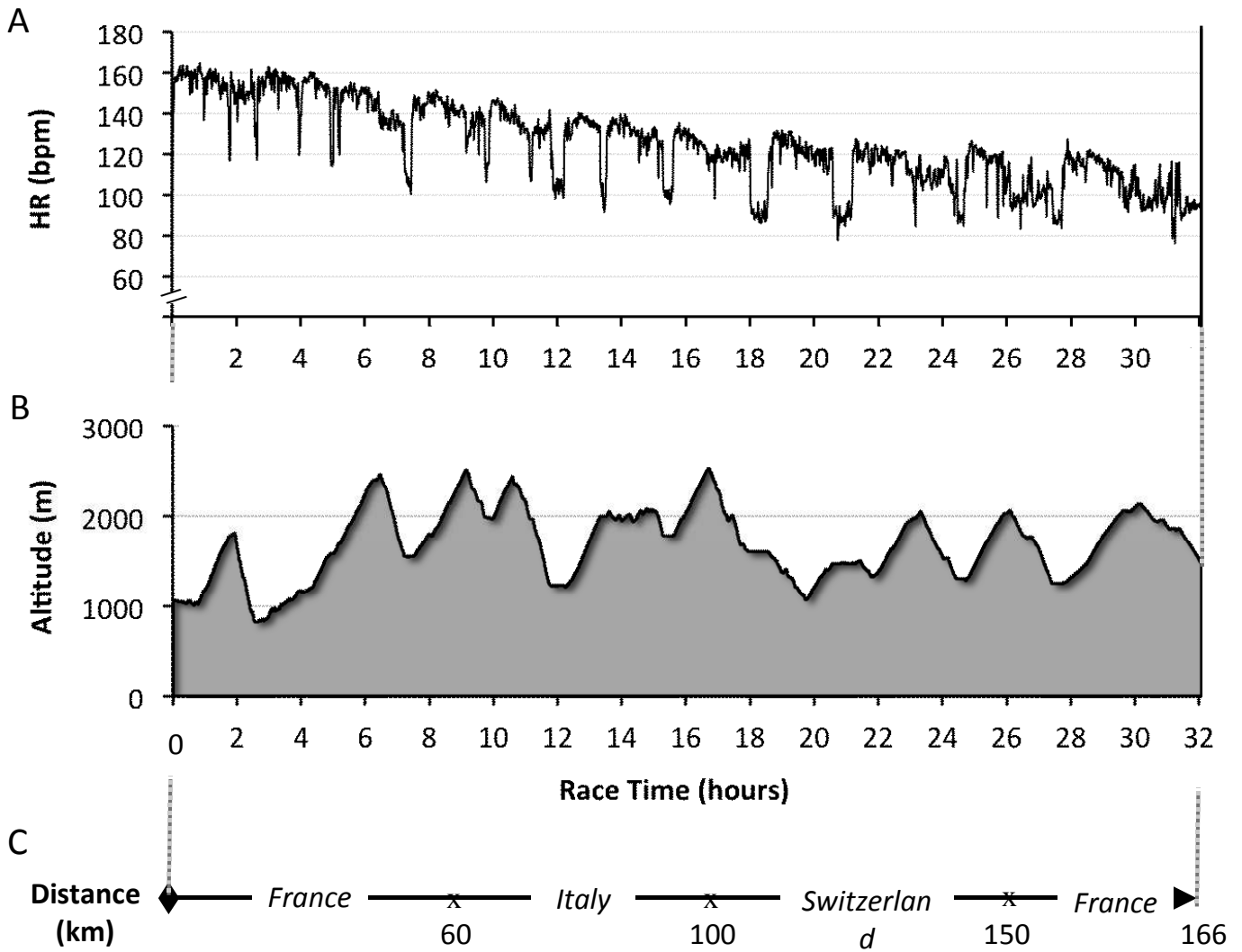
**Table 4 - Right ventricle peak strains and strain rates during systole and diastole before and after the race in the overall population and the elevated (*i.e.* > 0.030 µg/L) post-race cTnI population.**

	Overall population : n = 21		Population with elevated cTnI : n = 7	
	Pre race	Post race	Pre race	Post race
<b>RV strains</b>				
Longitudinal strain (%)	-26.8 ± 8.8	-25.1 ± 7.5	- 28.8 ± 13.2	- 23.4 ± 6.7
<b>RV systolic strain rates</b>				
Longitudinal strain rates (/s)	- 1.87 ± 0.75	- 1.82 ± 1.23	- 2.17 ± 0.85	- 1.37 ± 0.45**
<b>RV diastolic strain rates</b>				
Longitudinal strain rates (/s)	2.05 ± 0.68	2.06 ± 0.82	2.45 ± 0.79	1.77 ± 0.51*

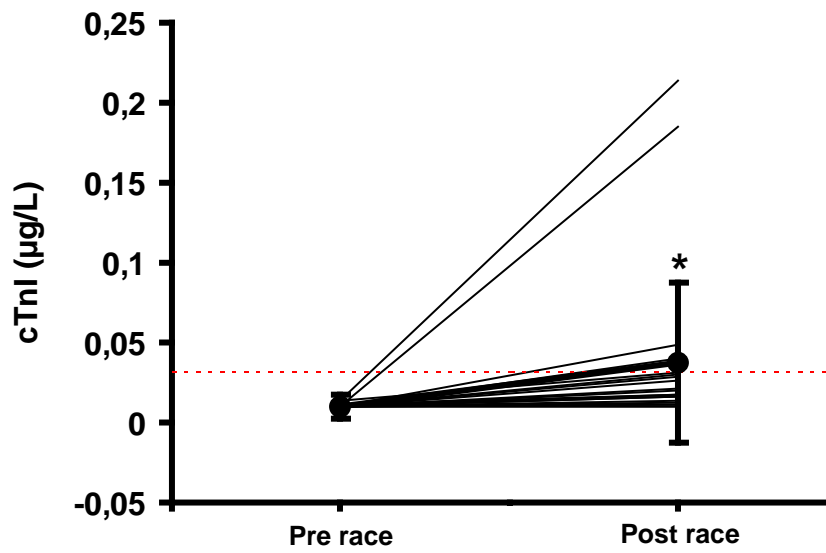
RV = right ventricle.

Significantly different from pre-race values: \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ .

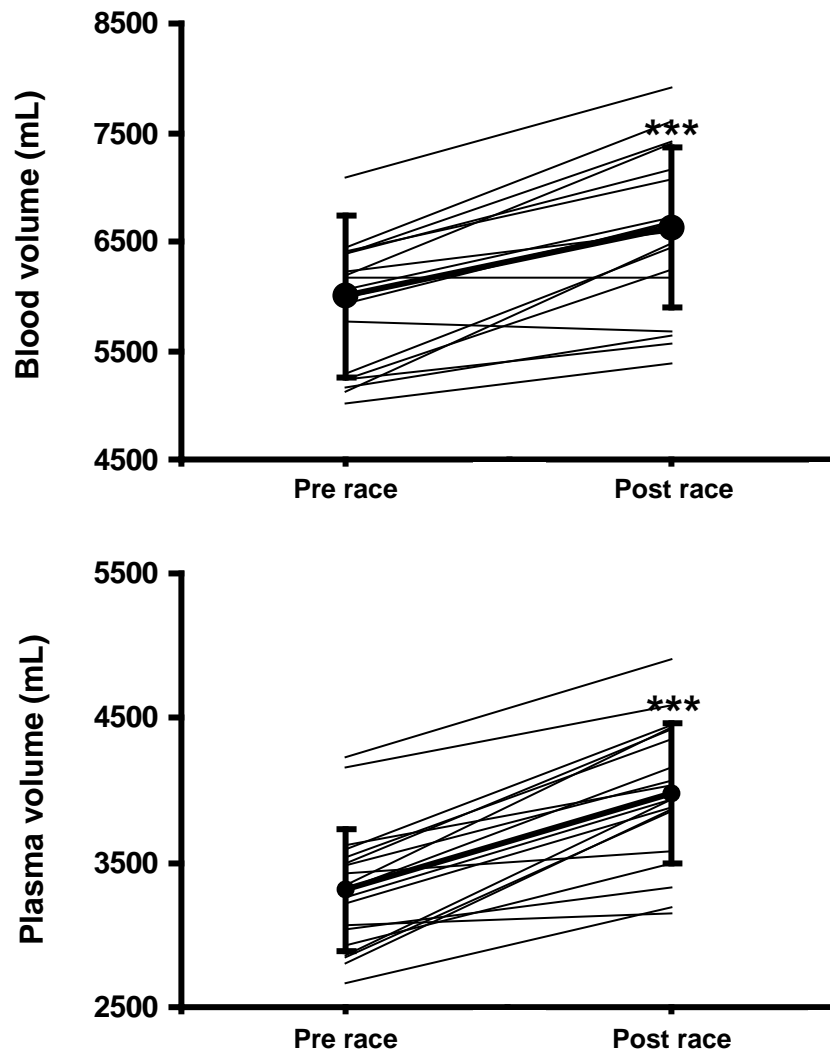
FIGURE 1 : Main features of the UTMB® track.



**FIGURE 2:** measures of cardiac troponin I before and after the UTMB<sup>®</sup> running demonstrating a post-race increment of this biomarker in the serum.

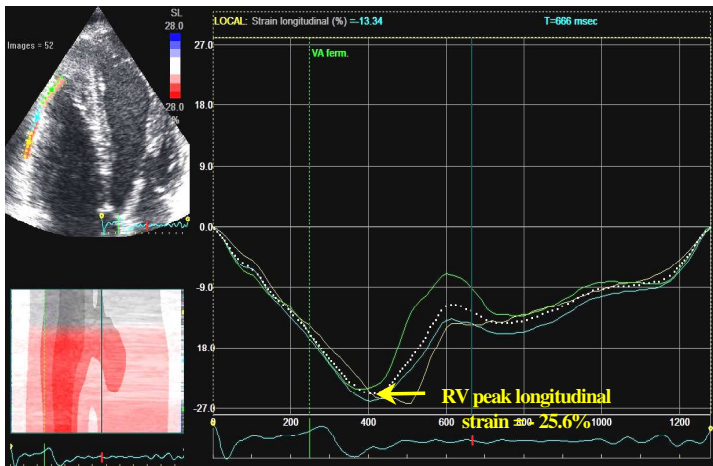


**FIGURE 3: blood and plasma volumes measures before and after the UTMB<sup>®</sup> running demonstrating a post-race expansion in both.**

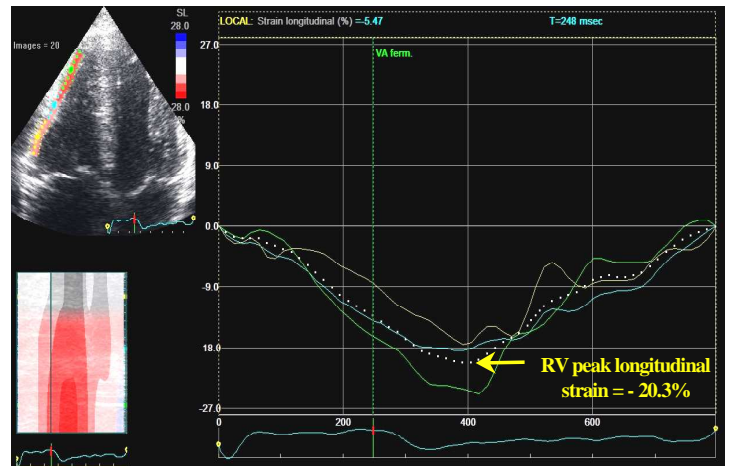


**FIGURE 4:** exemplar colour traces for RV longitudinal strain displayed across the cardiac cycle before (left) and after (right) the UTMB® running in a subject with major reduction in RV peak longitudinal strain post-race.

**Pre race**



**Post race**



## REFERENCES

1. Dawson EA, Whyte GP, Black MA, Jones H, Hopkins N, Oxborough D, Gaze D, Shave RE, Wilson M, George KP, Green DJ. Changes in vascular and cardiac function after prolonged strenuous exercise in humans. *J Appl Physiol* 2008; 105(5):1562-1568.
2. George K, Oxborough D, Forster J, Whyte G, Shave R, Dawson E, Stephenson C, Dugdill L, Edwards B, Gaze D. Mitral annular myocardial velocity assessment of segmental left ventricular diastolic function after prolonged exercise in humans. *J Physiol* 2005; 569(Pt 1):305-313.
3. Hanssen H, Keithahn A, Hertel G, Drexel V, Stern H, Schuster T, Lorang D, Beer AJ, Schmidt-Trucksass A, Nickel T, Weis M, Botnar R, Schwaiger M, Halle M. Magnetic resonance imaging of myocardial injury and ventricular torsion after marathon running. *Clin Sci (Lond)*; 120(4):143-152.
4. Oxborough D, Shave R, Middleton N, Whyte G, Forster J, George K. The impact of marathon running upon ventricular function as assessed by 2D, Doppler, and tissue-Doppler echocardiography. *Echocardiography* 2006; 23(8):635-641.
5. Wilson M, O'Hanlon R, Prasad S, Oxborough D, Godfrey R, Alpendurada F, Smith G, Wong J, Basavarajaiah S, Sharma S, Nevill A, Gaze D, George K, Whyte G. Biological markers of cardiac damage are not related to measures of cardiac systolic and diastolic function using cardiovascular magnetic resonance and echocardiography after an acute bout of prolonged endurance exercise. *Br J Sports Med*.
6. Chan-Dewar F, Oxborough D, Shave R, Gregson W, Whyte G, Noakes T, George K. Evidence of increased electro-mechanical delay in the left and right ventricle after prolonged exercise. *Eur J Appl Physiol*; 108(3):581-587.
7. George K, Shave R, Oxborough D, Cable T, Dawson E, Artis N, Gaze D, Hew-Butler T, Sharwood K, Noakes T. Left ventricular wall segment motion after ultra-endurance exercise in humans assessed by myocardial speckle tracking. *Eur J Echocardiogr* 2009; 10(2):238-243.
8. La Gerche A, Connelly KA, Mooney DJ, MacIsaac AI, Prior DL. Biochemical and functional abnormalities of left and right ventricular function after ultra-endurance exercise. *Heart* 2008; 94(7):860-866.
9. Nottin S, Doucende G, Schuster I, Tanguy S, Dautzat M, Obert P. Alteration in left ventricular strains and torsional mechanics after ultralong duration exercise in athletes. *Circ Cardiovasc Imaging* 2009; 2(4):323-330.
10. Whyte GP, George K, Sharma S, Lumley S, Gates P, Prasad K, McKenna WJ. Cardiac fatigue following prolonged endurance exercise of differing distances. *Med Sci Sports Exerc* 2000; 32(6):1067-1072.
11. George K, Whyte G, Stephenson C, Shave R, Dawson E, Edwards B, Gaze D, Collinson P. Postexercise left ventricular function and cTnT in recreational marathon runners. *Med Sci Sports Exerc* 2004; 36(10):1709-1715.
12. Middleton N, George K, Whyte G, Gaze D, Collinson P, Shave R. Cardiac troponin T release is stimulated by endurance exercise in healthy humans. *J Am Coll Cardiol* 2008; 52(22):1813-1814.
13. Shave R, Baggish A, George K, Wood M, Scharhag J, Whyte G, Gaze D, Thompson PD. Exercise-induced cardiac troponin elevation: evidence, mechanisms, and implications. *J Am Coll Cardiol*; 56(3):169-176.
14. Serrano-Ostariz E, Terreros-Blanco JL, Legaz-Arrese A, George K, Shave R, Bocos-Terraz P, Izquierdo-Alvarez S, Bancalero JL, Echavarri JM, Quilez J, Aragonés MT,

- Carranza-Garcia LE. The impact of exercise duration and intensity on the release of cardiac biomarkers. *Scand J Med Sci Sports*; 21(2):244-249.
15. Oxborough D, Birch K, Shave R, George K. "Exercise-induced cardiac fatigue"-a review of the echocardiographic literature. *Echocardiography*; 27(9):1130-1140.
  16. Middleton N, Shave R, George K, Whyte G, Hart E, Atkinson G. Left ventricular function immediately following prolonged exercise: A meta-analysis. *Med Sci Sports Exerc* 2006; 38(4):681-687.
  17. Banks L, Sasson Z, Busato M, Goodman JM. Impaired left and right ventricular function following prolonged exercise in young athletes: influence of exercise intensity and responses to dobutamine stress. *J Appl Physiol*; 108(1):112-119.
  18. Legaz-Arrese A, George K, Carranza-Garcia LE, Munguia-Izquierdo D, Moros-Garcia T, Serrano-Ostariz E. The impact of exercise intensity on the release of cardiac biomarkers in marathon runners. *Eur J Appl Physiol*.
  19. Shave R, George KP, Atkinson G, Hart E, Middleton N, Whyte G, Gaze D, Collinson PO. Exercise-induced cardiac troponin T release: a meta-analysis. *Med Sci Sports Exerc* 2007; 39(12):2099-2106.
  20. Dawson EA, Shave R, Whyte G, Ball D, Selmer C, Jans O, Secher NH, George KP. Preload maintenance and the left ventricular response to prolonged exercise in men. *Exp Physiol* 2007; 92(2):383-390.
  21. Scott JM, Warburton DE. Mechanisms underpinning exercise-induced changes in left ventricular function. *Med Sci Sports Exerc* 2008; 40(8):1400-1407.
  22. Scott JM, Esch BT, Haykowsky MJ, Isserow S, Koehle MS, Hughes BG, Zbogar D, Bredin SS, McKenzie DC, Warburton DE. Sex differences in left ventricular function and beta-receptor responsiveness following prolonged strenuous exercise. *J Appl Physiol* 2007; 102(2):681-687.
  23. Seals DR, Rogers MA, Hagberg JM, Yamamoto C, Cryer PE, Ehsani AA. Left ventricular dysfunction after prolonged strenuous exercise in healthy subjects. *Am J Cardiol* 1988; 61(11):875-879.
  24. Glace BW, Murphy CA, McHugh MP. Food intake and electrolyte status of ultramarathoners competing in extreme heat. *J Am Coll Nutr* 2002; 21(6):553-559.
  25. Amundsen BH, Helle-Valle T, Edvardsen T, Torp H, Crosby J, Lyseggen E, Stoylen A, Ihlen H, Lima JA, Smiseth OA, Slordahl SA. Noninvasive myocardial strain measurement by speckle tracking echocardiography: validation against sonomicrometry and tagged magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47(4):789-793.
  26. Helle-Valle T, Crosby J, Edvardsen T, Lyseggen E, Amundsen BH, Smith HJ, Rosen BD, Lima JA, Torp H, Ihlen H, Smiseth OA. New noninvasive method for assessment of left ventricular rotation: speckle tracking echocardiography. *Circulation* 2005; 112(20):3149-3156.
  27. Millet GY, Tomazin K, Verges S, Vincent C, Bonnefoy R, Boisson RC, Gergele L, Feasson L, Martin V. Neuromuscular consequences of an extreme mountain ultra-marathon. *PLoS One*; 6(2):e17059.
  28. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, Picard MH, Roman MJ, Seward J, Shanewise JS, Solomon SD, Spencer KT, Sutton MS, Stewart WJ. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr* 2005; 18(12):1440-1463.
  29. Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC, Marino PN, Oh JK, Smiseth OA, Waggoner AD, Flachskampf FA, Pellikka PA, Evangelista A. Recommendations for the evaluation of



- left ventricular diastolic function by echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2009; 22(2):107-133.
30. Notomi Y, Lysyansky P, Setser RM, Shiota T, Popovic ZB, Martin-Miklovic MG, Weaver JA, Oryszak SJ, Greenberg NL, White RD, Thomas JD. Measurement of ventricular torsion by two-dimensional ultrasound speckle tracking imaging. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45(12):2034-2041.
31. Apple FS, Quist HE, Doyle PJ, Otto AP, Murakami MM. Plasma 99th percentile reference limits for cardiac troponin and creatine kinase MB mass for use with European Society of Cardiology/American College of Cardiology consensus recommendations. *Clin Chem* 2003; 49(8):1331-1336.
32. Robach P, Recalcati S, Girelli D, Gelfi C, Aachmann-Andersen NJ, Thomsen JJ, Norgaard AM, Alberghini A, Campostrini N, Castagna A, Vigano A, Santambrogio P, Kempf T, Wollert KC, Moutereau S, Lundby C, Cairo G. Alterations of systemic and muscle iron metabolism in human subjects treated with low-dose recombinant erythropoietin. *Blood* 2009; 113(26):6707-6715.
33. Lundby C, Thomsen JJ, Boushel R, Koskolou M, Warberg J, Calbet JA, Robach P. Erythropoietin treatment elevates haemoglobin concentration by increasing red cell volume and depressing plasma volume. *J Physiol* 2007; 578(Pt 1):309-314.
34. Burge CM, Skinner SL. Determination of hemoglobin mass and blood volume with CO: evaluation and application of a method. *J Appl Physiol* 1995; 79(2):623-631.
35. Olsen NV, Aachmann-Andersen NJ, Oturai P, Munch-Andersen T, Borno A, Hulston C, Holstein-Rathlou NH, Robach P, Lundby C. Erythropoietin down-regulates proximal renal tubular reabsorption and causes a fall in glomerular filtration rate in humans. *J Physiol*; 589(Pt 6):1273-1281.
36. Neilan TG, Januzzi JL, Lee-Lewandrowski E, Ton-Nu TT, Yoerger DM, Jassal DS, Lewandrowski KB, Siegel AJ, Marshall JE, Douglas PS, Lawlor D, Picard MH, Wood MJ. Myocardial injury and ventricular dysfunction related to training levels among nonelite participants in the Boston marathon. *Circulation* 2006; 114(22):2325-2333.
37. Rifai N, Douglas PS, O'Toole M, Rimm E, Ginsburg GS. Cardiac troponin T and I, echocardiographic [correction of electrocardiographic] wall motion analyses, and ejection fractions in athletes participating in the Hawaii Ironman Triathlon. *Am J Cardiol* 1999; 83(7):1085-1089.
38. Davila-Roman VG, Guest TM, Tuteur PG, Rowe WJ, Ladenson JH, Jaffe AS. Transient right but not left ventricular dysfunction after strenuous exercise at high altitude. *J Am Coll Cardiol* 1997; 30(2):468-473.
39. Roth HJ, Leithauser RM, Doppelmayr H, Doppelmayr M, Finkemagel H, von Duvillard SP, Korff S, Katus HA, Giannitsis E, Beneke R. Cardiospecificity of the 3rd generation cardiac troponin T assay during and after a 216 km ultra-endurance marathon run in Death Valley. *Clin Res Cardiol* 2007; 96(6):359-364.
40. Scott JM, Esch BT, Shave R, Warburton DE, Gaze D, George K. Cardiovascular consequences of completing a 160-km ultramarathon. *Med Sci Sports Exerc* 2009; 41(1):26-34.
41. Giannitsis E, Roth HJ, Leithauser RM, Scherhag J, Beneke R, Katus HA. New highly sensitivity assay used to measure cardiac troponin T concentration changes during a continuous 216-km marathon. *Clin Chem* 2009; 55(3):590-592.
42. Niemela K, Palatsi I, Ikaheimo M, Airaksinen J, Takken J. Impaired left ventricular diastolic function in athletes after utterly strenuous prolonged exercise. *Int J Sports Med* 1987; 8(2):61-65.

43. Niemela KO, Palatsi IJ, Ikaheimo MJ, Takkunen JT, Vuori JJ. Evidence of impaired left ventricular performance after an uninterrupted competitive 24 hour run. *Circulation* 1984; 70(3):350-356.
44. Shave RE, Dawson E, Whyte G, George K, Ball D, Gaze DC, Collinson PO. Evidence of exercise-induced cardiac dysfunction and elevated cTnT in separate cohorts competing in an ultra-endurance mountain marathon race. *Int J Sports Med* 2002; 23(7):489-494.
45. Oxborough D, Shave R, Warburton D, Williams K, Oxborough A, Charlesworth S, Foulds H, Hoffman MD, Birch K, George K. Dilatation and Dysfunction of the Right Ventricle Immediately Following Ultra-Endurance Exercise: Exploratory Insights from Conventional 2-Dimensional and Speckle Tracking Echocardiography. *Circ Cardiovasc Imaging*.
46. Bleeker GB, Steendijk P, Holman ER, Yu CM, Breithardt OA, Kaandorp TA, Schaliij MJ, van der Wall EE, Nihoyannopoulos P, Bax JJ. Assessing right ventricular function: the role of echocardiography and complementary technologies. *Heart* 2006; 92 Suppl 1:i19-26.
47. Carlsson M, Ugander M, Heiberg E, Arheden H. The quantitative relationship between longitudinal and radial function in left, right, and total heart pumping in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 293(1):H636-644.

### **3. Étude n°3**

Publiée dans « **Journal of Applied Physiology** », impact facteur 2010 : **4,232**.

## $\beta$ -Adrenergic receptors desensitization is not involved in exercise-induced cardiac fatigue: NADPH oxidase-induced oxidative stress as a new trigger

Damien Vitiello,<sup>1</sup> Julien Boissière,<sup>2</sup> Grégory Doucende,<sup>1</sup> Sandrine Gayrard,<sup>1</sup> Anne Polge,<sup>3</sup> Patrice Faure,<sup>4,5</sup> Aurélie Goux,<sup>6</sup> Stéphane Tanguy,<sup>1</sup> Philippe Obert,<sup>1</sup> Cyril Reboul,<sup>1</sup> and Stéphane Nottin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Research Laboratory, Laboratory of Cardiovascular Adjustments to Exercise, Faculty of Sciences, University of Avignon;

<sup>2</sup>Research Laboratory, Physical Activity, Muscle, Health, Faculty of Sport Sciences and Physical Education, Lille-2 University, Ronchin; <sup>3</sup>Biochemistry Laboratory, Hospital of Nîmes, Nîmes; <sup>4</sup>Nutritional and Hormonal Biochemistry Laboratory, Hospital of Grenoble, Grenoble; <sup>5</sup>Research Laboratory, INSERM U 1040, Faculty of Medicine and Pharmacy, Grenoble University, Grenoble; and <sup>6</sup>Research Laboratory, Human Nutrition and Atherogenesis, University Institute of Clinical Research, Montpellier, France

Submitted 12 April 2011; accepted in final form 20 June 2011

**Vitiello D, Boissière J, Doucende G, Gayrard S, Polge A, Faure P, Goux A, Tanguy S, Obert P, Reboul C, Nottin S.**  $\beta$ -Adrenergic receptors desensitization is not involved in exercise-induced cardiac fatigue: NADPH oxidase-induced oxidative stress as a new trigger. *J Appl Physiol* 111: 000–000, 2011. First published June 30, 2011; doi:10.1152/jappphysiol.00449.2011.—Prolonged strenuous exercise (PSE) induces transient left ventricular (LV) dysfunction. Previous studies suggest that  $\beta$ -adrenergic pathway desensitization could be involved in this phenomenon, but it remains to be confirmed. Moreover, other underlying mechanisms involving oxidative stress have been recently proposed. The present study aimed to evaluate the involvement of both the  $\beta$ -adrenergic pathway and NADPH oxidase (Nox) enzyme-induced oxidative stress in myocardial dysfunction in rats following PSE. Rats were divided into 4 groups: controls (Ctrl), 4-h exercised on treadmill (PSE), and 2 groups in which Nox enzyme was inhibited with apocynin treatment (Ctrl APO and PSE APO, respectively). We evaluated cardiac function in vivo and ex vivo during basal conditions and isoproterenol stress. GSH/GSSG ratio, cardiac troponin I (cTnI) release, and lipid peroxidation (MDA) were evaluated. PSE induced a decrease in LV developed pressure, intrinsic myocardial contractility, and relaxation associated with an increase in plasma cTnI release. Our in vivo and ex vivo results demonstrated no differences in myocardial response to isoproterenol and of effective dose 50 between control and PSE rats. Interestingly, the LV dysfunction was reversed by apocynin treatment. Moreover, apocynin prevented cellular oxidation [GSH/GSSG ratio: PSE APO rats vs. PSE rats in arbitrary units (au):  $1.98 \pm 0.07$  vs.  $1.35 \pm 0.10$ ;  $P < 0.001$ ]. However, no differences in MDA were observed between groups. These data suggest that myocardial dysfunction observed after PSE was not due to  $\beta$ -adrenergic receptor desensitization but could be due to a signaling oxidative stress from the Nox enzyme.

myocardial dysfunction;  $\beta$ -adrenergic pathway

PROLONGED STRENUOUS EXERCISE (PSE), such as marathon or long-duration triathlon, induces transient left ventricle (LV) dysfunction (2, 5, 6, 10, 20, 23) associated with elevated markers of myocardial cell damage (19, 21, 26). In most studies, such LV dysfunctions were assessed by Doppler echocardiography, and consequently the influence of changes in loading conditions and circulating factors, such as cat-

echolamines, was difficult to discriminate from intrinsic myocardial functional alterations (6, 22). Recently, using new advances in echocardiography (i.e., less influenced by in vivo conditions) such as Tissue Doppler or Speckle Tracking Imaging, some studies report an alteration in myocardial mechanics after PSE (5, 11, 23), thus suggesting intrinsic impairment of myocardial function.

Today, despite such clinical evidence, the underlying mechanisms remain unclear. Pioneer studies suggest that elevated circulating catecholamines during prolonged exercise result in desensitization of the  $\beta$ -adrenergic receptors (13, 27). However, it is unclear whether such  $\beta$ -adrenergic stress (during few hours) could result in altered  $\beta$ -adrenergic response, since results regarding PSE-induced cardiac  $\beta$ -adrenergic receptor desensitization are controversial (13, 16, 27). Although confounding factors like circulating catecholamines and altered cardiac loading conditions influenced myocardial function in vivo following PSE (1, 8, 9), it is unclear whether  $\beta$ -adrenergic receptor desensitization is involved in PSE-induced cardiac fatigue.

Exercise-induced severe oxidative stress has been proposed as another main contributor (15). Among sources of ROS production, NADPH oxidase is commonly identified in the cardiovascular system and well known for its role in cardiac dysfunctions (18). In addition, it is of interest to note that NADPH oxidase activity is increased in response to tachycardia or exercise (25). However, to the best of our knowledge, the potential role of NADPH oxidase-induced oxidative stress in myocardial dysfunction following PSE has never been challenged.

In this context, using an experimental model of PSE in rats, we aimed to evaluate 1) whether PSE could result in intrinsic myocardial dysfunction and 2) whether  $\beta$ -adrenergic receptor desensitization and/or NADPH oxidase-induced oxidative stress could be involved in such myocardial dysfunction.

### METHODS

#### Ethical Approval

All procedures were performed in agreement with the *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* published by the US National Institutes of Health (NIH Publications No. 85–23, revised 1996) and approved by the French ministry of agriculture.

Address for reprint requests and other correspondence: V. Damien, Laboratory of Cardiovascular Adjustments to Exercise, Univ. of Avignon, 33 Rue Louis Pasteur, 84000 Avignon, France (e-mail: damien.vitiello@univ-avignon.fr).

### Animal Care

Adult male Wistar rats (250–325 g; 7–10 wk old;  $n = 112$ ; Charles River Laboratories, Lyon, France) were used in this study. All animals were housed in a temperature-controlled facility, provided with standard rat chow and water ad libitum, and adapted to a 12:12-h light/dark cycle in a temperature of 21°C.

**Animals and prolonged strenuous exercise.** Adult male Wistar rats were randomly assigned to the following groups: a first set of rats were control rats (Ctrl) and a second set were exercised rats (PSE). All exercise sessions were performed on a motorized rodent treadmill. All animals were familiarized with the treadmill over 5 days. Control rats were placed on the treadmill to experience the same restraint as PSE rats. On the last day, PSE rats were submitted to an adapted incremental endurance test. Briefly, the test started with a 5-min warm-up at 7.5 m/min running speed. Running speed was then increased by 1.5 m/min every 2 min until rats could no longer maintain pace with the treadmill. Two days after the incremental test (to avoid the fatigue effect of the test), rats performed a prolonged bout of exercise for 4 h at 60–65% of the maximal running speed achieved during the incremental test. To avoid the effect of recovery, all animals were killed within 30 min following PSE for the *in vivo* and isolated heart experiments.

### Implication of $\beta$ -Adrenergic Pathway

***In vivo* hemodynamic investigations.** After the run, a first set of rats ( $n = 20$ ) were intraperitoneally anesthetized (60 mg/kg pentobarbital sodium). Evaluation of both arterial and ventricular pressures was subsequently performed in intact closed-chest rats. Measurements of left intraventricular pressure and its maximal rate of rise ( $dP/dt_{max}$ ) and decrease ( $dP/dt_{min}$ ) were carried out before and during the maximal response to  $\beta_1/\beta_2$ -adrenergic receptors agonists (isoproterenol, 1 mg·kg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>) with a Millar pressure-volume transducer. The analog outputs of the arterial pressure and heart rate were collected with an MP35 module (Biopac System, Gotela, Santa-Barbara, CA). Data were processed with BIOPAC student Lab Pro 3.7 software.

**Isolated heart investigations.** In a second set of rats ( $n = 20$ ), animals were anesthetized (60 mg/kg pentobarbital sodium) following the run and 50 U of sodium heparin was administered in the saphenous vein. The heart was then quickly removed and placed on a constant pressure, isolated perfused Langendorff heart model. The ascending aorta was cannulated and subjected to retrograde perfusion with a Krebs buffer (in mM: 118 NaCl, 5 KCl, 0.9 MgSO<sub>4</sub>, 1.2 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 25 NaHCO<sub>3</sub>, 11 D-glucose, and 2.5 CaCl<sub>2</sub> and equilibrated with 95% O<sub>2</sub>–5% CO<sub>2</sub> at 37.5°C). An ultrathin water-filled balloon tied to a microtip catheter pressure transducer (MP35 SS13L, Gotela) was introduced into the left ventricular cavity to normalize the diastolic blood pressure and to record cardiac function. The hearts were electrically paced at 300 beats/min with an electrical stimulator (low voltage stimulator, BSL MP35 SS58L, Gotela). Following a 20-min equilibration period, baseline values of left ventricular developed pressure (LVDevP),  $dP/dt_{max}$ , and  $dP/dt_{min}$  were recorded using an MP 35 module (Biopac system, Gotela) and processed with BIOPAC student Lab Pro 3.7 software. After basal condition recording, functional measurements were made with injections of incremental concentrations of isoproterenol (0 to 10  $\mu$ mol/l at 0.3 ml/min). After perfusion, hearts were removed from the cannula and weighed. The sensitivity curve was done with LVDevP values of control and PSE rats at each isoproterenol dose with the Origin 8 software (OriginLab, Northampton, MA) using the polynomial curve fit analysis. The ED<sub>50</sub> is defined for each heart as the effective dose of isoproterenol that increases the LVDevP by 50% of maximal response.

### Implication of Oxidative Stress

**Isolated heart investigations.** In the third set of rats ( $n = 40$ ) Ctrl and PSE rats were treated with apocynin, a bio-absorbable (Sigma Aldrich, St. Quentin Fallavier, France) specific inhibitor of the NADPH oxidase enzyme. Apocynin was given in drinking water (1.5 mM) during the last 3 days before testing as previously described (28). Isolated heart investigations were made, as previously described, on four animal groups: Ctrl and PSE and Ctrl and PSE rats treated with apocynin.

### Biochemical Assays

After exercise, in a last set of rats ( $n = 32$ ), venous blood samples were obtained and hearts were quickly removed, trimmed of surrounding connective tissue and fat, and the LV was isolated, frozen in nitrogen liquid, and stored at –80°C for further assays.

**Blood sampling.** Collected samples (1.5 ml) were centrifuged (4,000 g, 10 min at 4°C) and stored at –80°C for further biochemical analyses of catecholamines and cardiac troponin I (cTnI), a marker of myocardial cell damage (ARCHITECT STAT Troponin-I Reagent Kit).

**Malondialdehyde assay.** Malondialdehyde (MDA) levels were determined in cardiac tissue as an indication of lipid peroxidation. Approximately 120 mg of frozen LV tissue were homogenized into 1 ml of 0°C cold HClO<sub>4</sub> (7% vol/vol) solution with the Ultra-Turrax T25 Basic (Rose Scientific, Toronto, Canada) at 11,000 rpm for 30 s and then centrifuged at 3,000 rpm for 10 min at 0°C. The supernatant was incubated for 30 min at 100°C and centrifuged for 15 min at 3,000 rpm at ambient temperature. Finally, MDA tissue concentration was assessed with a fluorimeter (Spectronic Jenway 62series, Garforth, G-B; excitation at 515 nm and emission at 553 nm).

**Glutathione and glutathione disulfide assay.** Glutathione levels were determined in cardiac tissue as an indication of oxidative stress. Frozen tissue samples were homogenized in four volumes (wt/vol) of 1% picric acid. After centrifugation (16 000 g, 30 min, 4°C), supernatant fractions were assayed for total glutathione and glutathione disulfide (GSH and GSSG) concentrations determination using the OxisResearch BIOXYTECH GSH/GSSG-412 kit. The procedure consisted of using linear regression of GSH and GSSG samples at 412 nm.

### Statistical Analysis

Data were analyzed using one-way or two-way ANOVA among groups. When significant interactions were found, a Bonferroni *t*-test was applied with adjusted  $P < 0.05$  (Statview 2.20; Adept Scientific, Letchworth, UK). Data are presented as means  $\pm$  SE.

## RESULTS

### PSE-Induced LV Dysfunction

From *in vivo* evaluation (Fig. 1, A and B), we observed a decrease in cardiac function in PSE compared with Ctrl rats, characterized by a drop in LVDevP (Fig. 1B, left),  $dP/dt_{max}$  (Fig. 1B, middle), and  $dP/dt_{min}$  (Fig. 1B, right). This altered cardiac function is obvious *in vivo* in PSE rats despite higher plasma concentration of epinephrine (Fig. 1C, left) and norepinephrine (Fig. 1C, middle). Following such strenuous exercise, cardiac dysfunction is associated with increased plasma concentration of cTnI (Fig. 1C, right). Such cardiac dysfunction observed *in vivo* was also found *ex vivo* (Fig. 1D). Indeed, in the *ex vivo* testing under highly standardized conditions (loading conditions and circulating factors), a marked decrease in LVDevP (Fig. 1D, left),  $dP/dt_{max}$  (Fig. 1D, middle), and  $dP/dt_{min}$  (Fig. 1D, right) was observed in PSE rats compared with

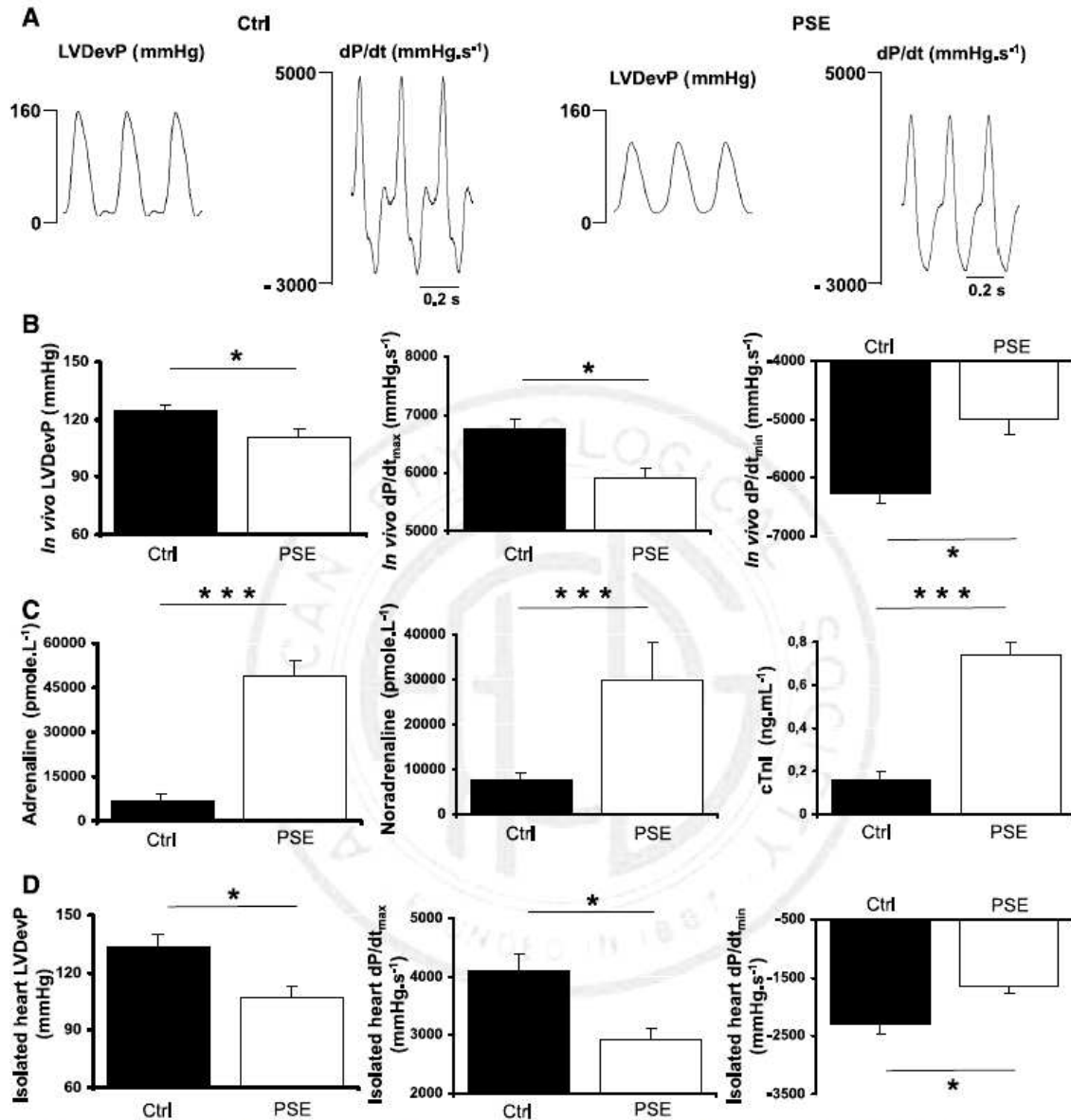


Fig. 1. Left ventricular dysfunction after a prolonged strenuous exercise. A: representative recording of left ventricular developed pressure (LVDevP), LV contractility ( $dP/dt_{max}$ ), and LV relaxation ( $dP/dt_{min}$ ). LVDevP,  $dP/dt_{max}$ , and  $dP/dt_{min}$  after prolonged strenuous exercise (PSE) in vivo (B) and ex vivo (isolated perfused heart, D). Adrenaline, noradrenaline, and cardiac troponin I (cTnI) concentrations in plasma after PSE (C). Values are expressed  $\pm$  SE. Significant differences between control (Ctrl) rats and exercised (PSE) rats \* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

Ctrl rats, hence highlighting an intrinsic myocardial dysfunction following prolonged strenuous exercise.

*Involvement of  $\beta$ -Adrenergic Pathway in Myocardial Dysfunction*

To evaluate the potential role of  $\beta$ -adrenergic receptor desensitization in PSE-induced myocardial dysfunction, we then evaluated cardiac responses to a  $\beta_1/\beta_2$ -adrenergic receptors

agonist (isoproterenol) on an isolated perfused rat heart. The myocardial response to increasing doses of isoproterenol was identical in PSE rats compared with Ctrl rats. The delta of responses to isoproterenol infusion, calculated as the difference between maximal cardiac response to isoproterenol and function at baseline, revealed no difference in  $\Delta$ LVDevP (Fig. 2A, left),  $\Delta$  $dP/dt_{max}$  (Fig. 2A, middle), and  $\Delta$  $dP/dt_{min}$  (Fig. 2A, right) between groups. In addition, according to normalized

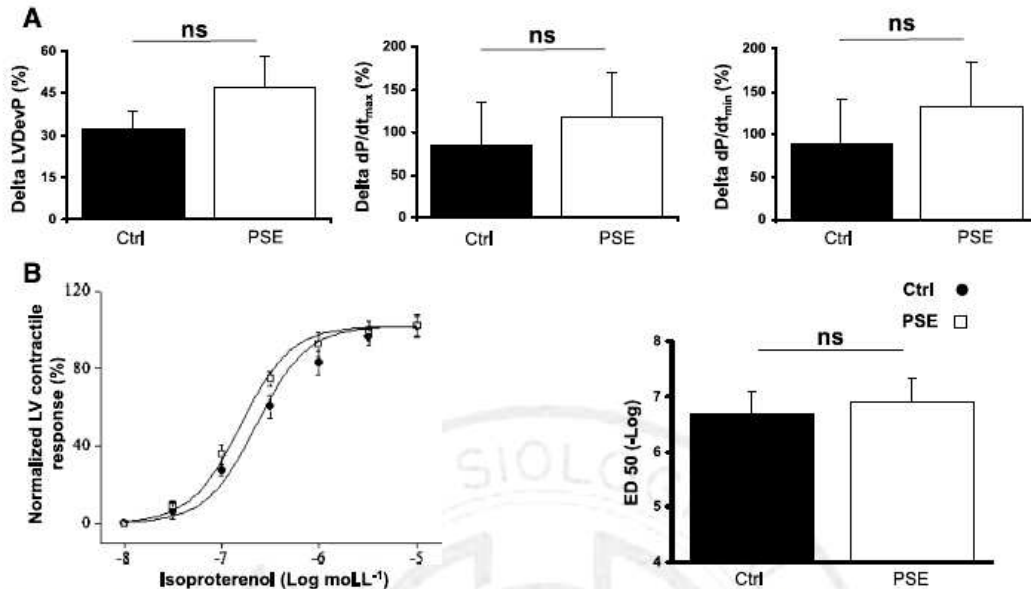


Fig. 2. Myocardial dysfunction and  $\beta$ -adrenergic pathway. LLVDevP,  $dP/dt_{max}$ , and  $dP/dt_{min}$  responses to isoproterenol (A) ex vivo (isolated perfused heart). B: LVDevP response to incremental isoproterenol infusions after PSE in control ( $\bullet$ ) and PSE rats ( $\square$ ). Values are means  $\pm$  SE and are expressed as a percentage of response to isoproterenol from baseline (delta). ns, No significant differences between control (Ctrl) and exercised (PSE) rats. Significant differences with control value:  $*P < 0.05$ .

sensitivity curves, heart sensitivity ( $ED_{50}$ ) to isoproterenol was not altered in PSE rats compared with Ctrl (Fig. 2B, right).

#### Involvement of Oxidative Stress in Myocardial Dysfunction

All results concerning involvement of oxidative stress in myocardial dysfunction are depicted in Table 1. To evaluate the potential role of oxidative stress and more particularly of NADPH oxidase activation by PSE, rats were treated with apocynin, a specific inhibitor of NADPH oxidase, prior to exercise test. PSE-induced oxidative stress is evidenced by the decrease in GSH/GSSG ratio (Fig. 3A, left), with increase cTnI release (Fig. 3A, middle) and no alteration of tissular MDA (Fig. 3A, right), a marker of lipid peroxidation. In PSE rats treated with apocynin, GSH/GSSG ratio was normalized (Fig. 3A, left) and cTnI release partially blunted (Fig. 3A, middle), thus suggesting a major role of NADPH oxidase in the aforementioned PSE-induced oxidative stress. The specific inhibi-

tion of NADPH oxidase during PSE improved myocardial function in PSE rats to the level of Ctrl rats (Fig. 3B). Similarly, LVDevP (Fig. 3B, left),  $dP/dt_{max}$  (Fig. 3B, middle), and  $dP/dt_{min}$  (Fig. 3B, right) were normalized in PSE rats to levels found in Ctrl rats.

#### DISCUSSION

The major findings of the present study indicate that 1) prolonged strenuous exercise induces impairment in intrinsic myocardial function, 2)  $\beta$ -adrenergic receptor desensitization is not involved in this phenomenon, and 3) NADPH oxidase-induced modification of redox status is a potential new trigger of PSE-induced cardiac dysfunction.

#### PSE-Induced Intrinsic Myocardial Dysfunction

In humans, long-duration exercise such as marathon or long-duration triathlon induces a decrease in LV function (2, 5,

Table 1. Myocardial dysfunction and Nox-dependent oxidative stress

	Ctrl	Ctrl APO	PSE	PSE APO
<i>Nox-dependent oxidative stress</i>				
GSH/GSSG ratio, au	2.15 $\pm$ 0.15	1.93 $\pm$ 0.09	1.35 $\pm$ 0.10c	1.98 $\pm$ 0.07e
cTnI, ng/ml	0.16 $\pm$ 0.04	0.19 $\pm$ 0.05	0.74 $\pm$ 0.06c	0.55 $\pm$ 0.05d
MDA, nmol/g	9.88 $\pm$ 1.00	7.54 $\pm$ 1.00	7.57 $\pm$ 1.00	7.40 $\pm$ 1.00
<i>Myocardial function</i>				
LVDevP, mmHg	123 $\pm$ 7	115 $\pm$ 7	82 $\pm$ 2b	108 $\pm$ 4e
$dP/dt_{max}$ , mmHg/s	4125 $\pm$ 200	3723 $\pm$ 157	2591 $\pm$ 93a	3407 $\pm$ 134d
$dP/dt_{min}$ , mmHg/s	-2,122 $\pm$ 74	-1,829 $\pm$ 77	-1,542 $\pm$ 78a	-1923 $\pm$ 96d

Values are means  $\pm$  SE. cTnI, cardiac troponin I;  $dP/dt_{max}$ , index of contractility;  $dP/dt_{min}$ , index of relaxation; GSH/GSSG ratio, ratio of reduced glutathione to oxidized glutathione; LVDevP, left ventricular developed pressure; MDA, mMalondialdehyde. Significant differences between control (ctrl) and prolonged strenuous exercise (PSE) rats: a $P < 0.05$ ; b $P < 0.01$ ; c $P < 0.001$  and between PSE and PSE apocynin (APO) rats: d $P < 0.05$ ; e $P < 0.001$ .

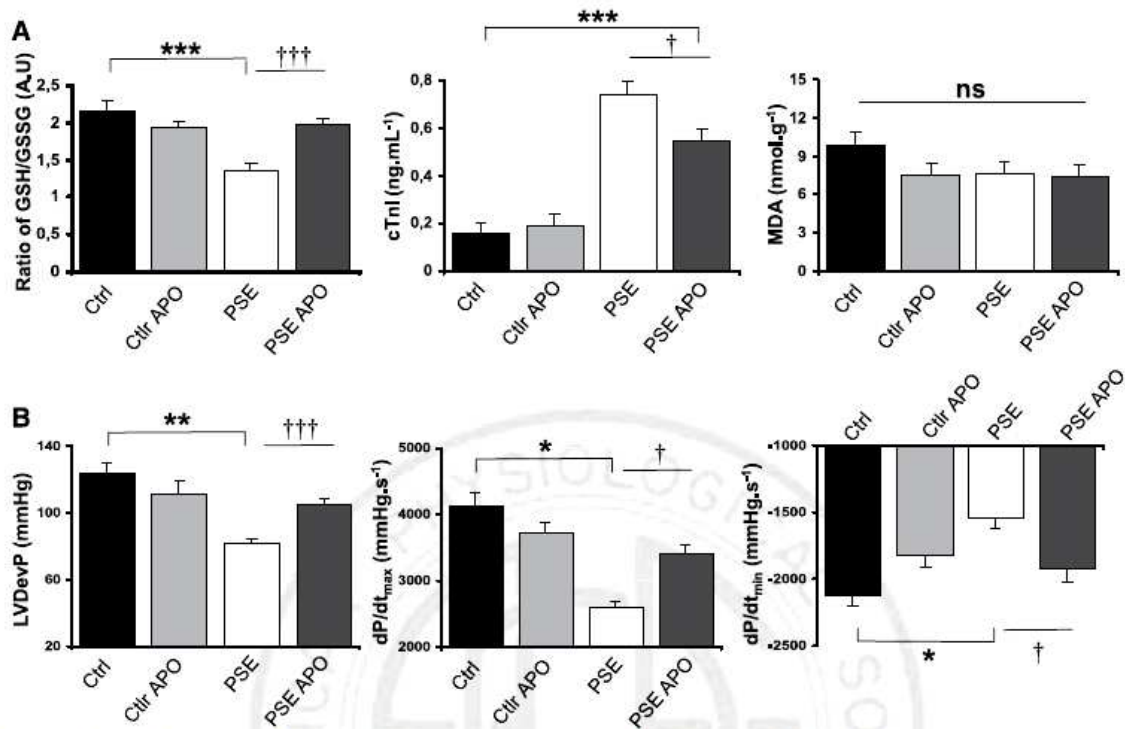


Fig. 3. Myocardial dysfunction and Nox-dependent oxidative stress. Effect of apocynin treatment and PSE on GSH/GSSG ratio, myocardial damage (cTnI; A) and lipid peroxidation [malondialdehyde (MDA)] left ventricular function (B). Values are means  $\pm$  SE. Significantly different from control (Ctrl) and exercised (PSE) rats. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ . Significant differences for the effect of apocynin treatment † $P < 0.05$ , †† $P < 0.01$ , ††† $P < 0.01$ .

6, 10, 20, 23). In the present study, we used an animal model to obtain "exercise-induced cardiac fatigue." The results obtained *in vivo* in the present study are comparable to those obtained in humans since PSE resulted in reduced cardiac function despite elevated circulating plasma catecholamines. The high level of circulating catecholamines accompanied by potential alterations of heart loading conditions are confounding factors that preclude any conclusion regarding intrinsic myocardial dysfunction after PSE. Therefore, using an isolated perfused rat heart model allowed us to avoid the influence of such confounding factors. A major result of the present study is that myocardial function after strenuous exercise is markedly impaired. This result strongly suggests, for the first time, that PSE results in intrinsic myocardial fatigue. This conclusion is in line with recent studies in humans using new advances in echocardiography, less influenced by loading conditions and heart rate (5, 11, 23).

#### Implication of $\beta$ -Adrenergic Pathway in PSE-Induced LV Dysfunction

The underlying mechanisms responsible for this deterioration in myocardial function after PSE are subject to ongoing debate. Recent studies suggest that  $\beta$ -adrenergic receptor desensitization could be one potential mechanism (13, 27). However, results in the literature are inconclusive, with some studies reporting altered cardiac responses to  $\beta$ -adrenergic receptor agonists after PSE (2, 7), while others found no change (16). Such

contradictions could be explained by PSE induced 1) persistent higher levels of circulating catecholamines, 2) changes in blood plasma volume, subsequently of heart loading conditions, and 3) altered vascular resistance. Therefore, a main finding of the present study is the absence of change in cardiac response to a  $\beta_1/\beta_2$ -adrenergic receptor agonist in the isolated PSE rat hearts. This result suggests that PSE is not associated with alteration of heart response to  $\beta$ -adrenergic receptor stimulation, and in our experimental model, PSE-induced *in vivo* cardiac dysfunction is not explained by alteration of the  $\beta$ -adrenergic receptor pathway.

#### Implication of NADPH Oxidase-Induced Oxidative Stress in PSE-Induced LV Dysfunction

Among the potential mechanisms, oxidative stress can be involved in PSE-induced LV dysfunction. As seen, in our model, an increase in oxidative stress was reported in myocardial tissue after PSE, characterized by redox status alterations. Despite oxidative stress being associated with cardiac injuries in PSE rats, characterized by increased plasma cTnI release, no detectable change is reported regarding lipid peroxidation. However, moderate oxidative stress is sufficient to alter myocardial function after PSE. NADPH oxidase is regarded as a main pathological source of superoxide anion in the myocardium (12, 18, 24). In addition, its activity is increased with exercise (25). In this study, Sanchez et al. (25) proposed that the activation of NADPH oxidase by a short-duration exercise



19. Neilan TG, Januzzi JL, Lee-Lewandrowski E, Ton-Nu TT, Yoerger DM, Jassal DS, Lewandrowski KB, Siegel AJ, Marshall JE, Douglas PS, Lawlor D, Picard MH, Wood MJ. Myocardial injury and ventricular dysfunction related to training levels among nonelite participants in the Boston marathon. *Circulation* 114: 2325–2333, 2006.
20. Neilan TG, Yoerger DM, Douglas PS, Marshall JE, Halpern EF, Lawlor D, Picard MH, Wood MJ. Persistent and reversible cardiac dysfunction among amateur marathon runners. *Eur Heart J* 27: 1079–1084, 2006.
21. Nie J, Close G, George KP, Tong TK, Shi Q. Temporal association of elevations in serum cardiac troponin T and myocardial oxidative stress after prolonged exercise in rats. *Eur J Appl Physiol* 110: 1299–1303, 2010.
22. Niemela KO, Palatsi IJ, Ikaheimo MJ, Takkunen JT, Vuori JJ. Evidence of impaired left ventricular performance after an uninterrupted competitive 24 hour run. *Circulation* 70: 350–356, 1984.
23. Noffin S, Doucende G, Schuster I, Tanguy S, Dazat M, Obert P. Alteration in left ventricular strains and torsional mechanics after ultralong duration exercise in athletes. *Circ Cardiovasc Imaging* 2: 323–330, 2009.
24. Reid MB, Shoji T, Moody MR, Entman ML. Reactive oxygen in skeletal muscle. II Extracellular release of free radicals. *J Appl Physiol* 73: 1805–1809, 1992.
25. Sanchez G, Escobar M, Pedrozo Z, Macho P, Domenech R, Hartel S, Hidalgo C, Donoso P. Exercise and tachycardia increase NADPH oxidase and ryanodine receptor-2 activity: possible role in cardioprotection. *Cardiovasc Res* 77: 380–386, 2008.
26. Shave R, Baggish A, George K, Wood M, Scharhag J, Whyte G, Gaze D, Thompson PD. Exercise-induced cardiac troponin elevation: evidence, mechanisms, and implications. *J Am Coll Cardiol* 56: 169–176, 2010.
27. Welsh RC, Warburton DE, Humen DP, Taylor DA, McGavock J, Haykowsky MJ. Prolonged strenuous exercise alters the cardiovascular response to dobutamine stimulation in male athletes. *J Physiol* 569: 325–330, 2005.
28. Yamamoto E, Lai ZF, Yamashita T, Tanaka T, Kataoka K, Tokutomi Y, Ito T, Ogawa H, Kim-Mitsuyama S. Enhancement of cardiac oxidative stress by tachycardia and its critical role in cardiac hypertrophy and fibrosis. *J Hypertens* 24: 2057–2069, 2006.
29. Zhang P, Hou M, Li Y, Xu X, Barsoum M, Chen Y, Bache RJ. NADPH oxidase contributes to coronary endothelial dysfunction in the failing heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 296: H840–H846, 2009.
30. Zima AV, Blatter LA. Redox regulation of cardiac calcium channels and transporters. *Cardiovasc Res* 71: 310–321, 2006.



# **Discussion**

心

## **1. Résultats majeurs de ce travail de doctorat**

Les études cliniques mises en place dans ce travail de doctorat ont mis en évidence que les dysfonctions cardiaques observées à l'issu d'un EPP dépendaient de l'intensité de l'effort. Après des exercices de durée modérée mais d'intensité élevée, nous avons observé des altérations cardiaques importantes associées à des baisses de contractilité et de relaxation du myocarde. Grâce à notre approche translationnelle, nous avons pu mettre en évidence le rôle important du stress oxydant produit par la Nox dans la survenue de ces dysfonctions intrinsèques au myocarde.

## **2. Apports des études cliniques dans la compréhension de la mécanistique des dysfonctions cardiaques transitoires induites par un EPP**

### **2.1. Mise en évidence de la fatigue cardiaque après un exercice de pédalage de 3 heures**

Il est largement reconnu dans littérature qu'un EPP de durée modérée de type marathon entraîne des dysfonctions diastoliques (Hanssen *et al.*; Wilson *et al.*; Dawson *et al.*, 2008) probablement dues à une altération des propriétés de relaxation myocardique (George *et al.*, 2005; Dawson *et al.*, 2008). En revanche, l'effet de ce type d'EPP sur la fonction systolique reste controversé, notamment concernant les propriétés de contractilité du myocarde (Banks *et al.*, 2010; Hanssen *et al.*, 2011; Wilson *et al.*, 2010; Dawson *et al.*, 2007).

Dans l'étude n°1 de ce travail de doctorat, nous avons clairement montré que la fonction systolique du VG était diminuée en condition de repos après un EPP de durée modérée. Ces résultats sont en accord avec d'autres travaux ayant évalué la fonction systolique du VG post-EPP (Banks *et al.*, 2010; Hart *et al.*, 2006; Neilan *et al.*, 2006b). Cependant, ces résultats ne nous donnent aucun renseignement sur l'atteinte contractile du myocarde puisque les différents paramètres évalués dépendent d'un certain nombre de facteurs comme les conditions de charge cardiaque et la FC.

La contractilité se définit comme la vitesse maximale de raccourcissement des fibres myocardiques (Bombardini, 2005). Pour l'évaluer, nous avons utilisé des indices non-vulnérants de contractilité comme l'onde S' moyenne (Seo *et al.*, 2010) les pics systoliques des vitesses des déformations ventriculaires (Greenberg *et al.*, 2002) ou encore la rotation apicale du VG (Kim *et al.*, 2009). Grâce à l'évaluation de ces indices moins dépendants des conditions de charge cardiaque, nous avons montré que la contractilité du VG n'était pas modifiée voir légèrement augmentée en condition de repos après un EPP de durée modérée, résultats là encore en accord avec d'autres (George *et al.*, 2006; Dawson *et al.*, 2008). Cependant, la majorité des études présentées ci-dessus évalue la fonction cardiaque dans l'heure qui suit l'arrêt de l'exercice dans des conditions de repos. Or, cette période est caractérisée par une tachycardie persistante et par des conditions de charge cardiaque modifiées (Dawson *et al.*, 2007; Hart *et al.*, 2007; George *et al.*, 2009). Ainsi, la modulation de la fonction cardiaque par ces différents facteurs ne nous permet pas de conclure quant à une réelle atteinte de la contractilité myocardique à la suite de l'EPP en condition de repos.

Dans ce contexte, l'originalité de l'étude n°1 a été d'utiliser un dispositif expérimental particulier dans lequel nous avons évalué la fonction cardiaque par STE au repos et lors d'un exercice progressif durant lequel la FC de chaque sujet était identique à celle atteinte lors de

l'exercice progressif réalisée avant l'EPP. Grâce à cette méthodologie spécifique, nos résultats ont montré que les sujets avaient réalisé l'exercice progressif à même FC et à même résistances vasculaires périphériques (*i.e.* indice postcharge). De plus, au cours de l'EPP, les sujets ont été invités à boire régulièrement pour maintenir leur niveau d'hydratation. Dans de telles conditions, nos résultats ont montré une diminution de la fonction systolique globale du VG après l'EPP. De manière intéressante, la réponse lors de l'exercice progressif des différents indices de contractilité a été diminuée après l'EPP. En conséquence, les valeurs de ces indices étaient plus faibles après l'EPP au palier n°3 de l'exercice progressif. Ainsi, ces résultats suggèrent fortement une atteinte myocardique après un EPP de durée modérée. De manière intéressante, nos analyses de régression entre l'onde S' moyenne, les pics de vitesse des déformations systoliques longitudinales du VG et la FC n'ont montré aucune différence au niveau des pentes des droites mais des différences au niveau des ordonnées à l'origine. Ces résultats appuient les résultats précédents et soulignent une atteinte contractile myocardique non seulement pendant l'exercice progressif mais aussi en condition de repos à la suite de l'EPP lorsque l'on s'affranchit des différences de FC.

## 2.2.Mise en évidence de dommages myocardiques et de dysfonctions ventriculaires droites après des exercices de très longue durée

Depuis quelques années, les ultra-marathons ou les ultra-trails, caractérisés par des efforts de très longue durée dépassant souvent 24 heures, deviennent de plus en plus populaires. Cependant, il existe très peu d'information concernant les modifications des fonctions ventriculaires gauche et droite à la suite de ce type d'EPP.

Les altérations de la fonction cardiaque à la suite d'un EPP dépendent de différents

facteurs. Ces altérations dépendent de la durée de l'EPP (Oxborough *et al.*, 2010) et également de l'intensité de l'EPP (Banks *et al.*, 2010) pour des exercices de durée similaire. Comme les EPP de très longue durée sont caractérisés par des efforts de faible intensité, il est légitime de se demander si ce type d'effort engendre des dommages myocardiques et une baisse de la fonction cardiaque. À noter, sur ce type de course, la fonction cardiaque peut aussi être altérée par la modification des conditions de charge cardiaque post-exercice (Hassan *et al.*, 2006; Dawson *et al.*, 2007; Scott & Warburton, 2008). En effet, des études ont montré une augmentation du volume sanguin et du volume plasmatique à la suite d'EPP de durée comprise entre 8 heures et 10 heures de course (Astrand & Saltin, 1964; Pugh, 1969; Speedy *et al.*, 2001) et de durée supérieure à 24 heures (Glance *et al.*, 2002). Sur la base de ces résultats, il paraît important d'évaluer la fonction cardiaque à la suite de ce type d'effort en relation avec les modifications des conditions de charge cardiaque et la quantification de l'intensité de l'exercice.

En outre, des travaux se sont intéressés à l'impact d'un EPP sur la fonction du VD. Une baisse de la fonction du VD évaluée par échocardiographie standard a été rapportée à la suite d'EPP de longue durée (Douglas *et al.*, 1990; La Gerche *et al.*, 2008) et de très longue durée (Davila-Roman *et al.*, 1997). Cependant, l'évaluation de la fonction du VD par échocardiographie standard est problématique du fait de la géométrie, de la localisation et des nombreuses irrégularités de la structure du VD (Bleeker *et al.*, 2006). De plus, les résultats restent descriptifs et les mécanismes impliqués dans la dysfonction du VD restent très spéculatifs.

Dans ce contexte, nous avons réalisé, au cours de l'étude n°2, des évaluations de la fonction du VD et du VG par échocardiographie standard, Doppler tissulaire et STE chez 21 athlètes entraînés en endurance avant et après les 166 km de l'UTMB® ; course de renommée

mondiale à haute altitude autour du Mont-Blanc. En parallèle à ces évaluations, nous avons réalisé un dosage des cTnI dans le sérum et une évaluation du volume plasmatique et de la volémie.

De manière intéressante, grâce à l'enregistrement en continu de la FC chez 16 trailers, nous avons pu constater que l'intégralité de l'UTMB<sup>®</sup> a été courue à une intensité relativement modérée et malgré cela, nous avons pu mettre en évidence des dommages myocardiques caractérisés par une augmentation des cTnI. Ce résultat conforte celui montré par d'autres auteurs après un EPP de très longue durée (Scott *et al.*, 2009) et soulève à nouveau la question des mécanismes de libération de ces biomarqueurs pendant des EPP. De manière intéressante, nos analyses de régression ont montré que les libérations de cTnI les plus importantes étaient retrouvées chez les coureurs les plus rapides. Ainsi, il semble que la libération des cTnI soit liée à l'intensité de course comme l'avait suggéré d'autres auteurs (Scott *et al.*, 2009). À noter, 7 des 21 athlètes de notre étude présentaient des taux de cTnI supérieur au seuil clinique de risque de survenue d'un syndrome coronarien aigu.

Alors que la majorité des études ayant évalué la fonction cardiaque après une EPP de très longue durée ont rapporté des baisses des fonctions diastolique et systolique du VG (Niemela *et al.*, 1984; Niemela *et al.*, 1987; Shave *et al.*, 2002; Scott *et al.*, 2009), nous avons observé des fonctions systolique et diastolique ventriculaires gauches normales voire améliorées après l'UTMB<sup>®</sup> dans la population globale de notre étude. En parallèle, nous avons observé une augmentation des volumes plasmatique et sanguin à l'issue de la course (*i.e.* respectivement en pourcentage d'augmentation par rapport à la valeur de repos avant l'UTMB<sup>®</sup>: 11 % ± 9 % et 21 % ± 10 %) et une diminution des résistances vasculaires périphériques, l'ensemble de ces résultats soulignant des modifications importantes de pré et postcharge cardiaques après la course. Ainsi, ces différents facteurs sont susceptibles de

masquer les éventuelles baisses de fonction du VG rapportées dans les études antérieures.

Concernant la fonction ventriculaire droite, à la différence de la population globale de notre étude, les athlètes ayant les taux de cTnI les plus élevés présentaient une dilatation de la cavité ventriculaire droite caractérisée par une augmentation du diamètre ventriculaire basal après l'UTMB<sup>®</sup>. Ce résultat est en accord avec ceux d'autres études menées à l'issue d'EPP de longue durée (La Gerche *et al.*, 2008) et de très longue durée (Davila-Roman *et al.*, 1997) où les auteurs ont également rapporté une dilatation du VD. De manière similaire aux travaux précédents ayant démontré une baisse de la fonction systolique du VD par échocardiographie standard (*i.e.* FAC du VD), les 7 sujets de notre étude ayant des cTnI élevés sont caractérisés non seulement par une baisse des indices de fonction systolique mais surtout des baisses de vitesses des déformations longitudinales diastolique et systolique du VD évaluées par STE. D'après ces résultats, il est possible de dire qu'un EPP de très longue durée engendre une dilatation du VD accompagnée d'une baisse de fonction associée à des baisses de contractilité et de relaxation chez les sujets pour lesquels les dommages myocardiques sont les plus importants après la course. Ainsi, le VD semble être le ventricule qui présente les dysfonctions les plus importantes à la suite de ce genre d'EPP. Les suggestions de La Gerche *et al.* (2008) selon lesquelles le VD est moins capable de s'adapter que le VG à la surcharge de travail imposée par un EPP de très longue durée confortent nos résultats. De fait, cette surcharge de travail induirait une dilatation ventriculaire droite associée à une dysfonction qui favoriserait la survenue d'arythmies chez des athlètes très entraînés en endurance (Heidbuchel *et al.*, 2003). Cependant, ce dernier point reste très spéculatif et nécessite des études complémentaires pour évaluer plus précisément les adaptations fonctionnelles et structurales du VD après un EPP de très longue durée et d'en apprécier les conséquences sur le long-terme.



### 2.3.Bilan

L'évaluation de la fonction cardiaque par STE dans des conditions standardisées de FC et de charge cardiaque, nous a permis de suggérer fortement une atteinte contractile intrinsèque du myocarde à la suite d'un EPP de durée modérée, grâce à l'utilisation de nouveaux indices de contractilité du VG moins dépendants des conditions de charge cardiaque. Nos résultats confirment ceux retrouvés dans les études menées chez l'animal (Venditti *et al.*, 2001; Wonders *et al.*, 2007) dans lesquelles la FC et les conditions de charge cardiaque sont également standardisées et montrent que les dysfonctions cardiaques induites par un EPP sont sûrement dues à des atteintes fonctionnelles intrinsèques plutôt qu'à des modifications de pré et de postcharge cardiaques liées à la déshydratation.

Il semblerait également que les dysfonctions observées soient liées à l'intensité de l'effort. En effet, celles-ci sont différentes à la suite d'un EPP de très longue durée et à la suite d'un EPP de durée modérée caractérisé par une intensité d'effort élevée. Bien que les études cliniques aient apporté des informations précises sur les mécanismes sous-jacents aux dysfonctions cardiaques induites par différents types d'EPP, les modèles utilisés restent intégrés et les outils d'investigation jamais complètement indépendants des conditions de charge cardiaque.

### **3. Apports des études fondamentales dans la compréhension de la mécanistique des dysfonctions cardiaques transitoires induites par un EPP**

#### 3.1. Mise en évidence d'une fatigue cardiaque induite par un EPP chez l'animal

Les premières études de la fonction cardiaque à la suite d'un EPP sont apparues dans les années 1970-80 et ont été réalisées à l'étage cellulaire (Maher *et al.*, 1972) et *in vivo* (Grimditch *et al.*, 1981). Les résultats de ces deux études étaient discordants. Alors que la première étude a montré une baisse de la vitesse de raccourcissement des cellules musculaires cardiaques isolées de rat, la deuxième étude menée sur le chien n'a rapporté aucun changement de fonction après l'EPP. Cependant, bien que l'évaluation de la fonction cardiaque *in vivo* ait pour intérêt de rendre compte de la fonction du cœur dans son contexte physiologique, celle-ci reste de fait soumise aux modifications des conditions de charge cardiaque et à la tachycardie persistante post-effort. Ainsi, il est difficile d'établir une conclusion objective quant à une réelle atteinte de la fonction cardiaque à la suite d'un EPP avec ce type d'investigation.

Dans ce cadre, dans l'étude n°3 de ce travail de doctorat, nous avons évalué la fonction cardiaque chez le rat grâce au modèle du cœur isolé perfusé de Langendorff. Bien que le cœur soit étudié hors de son contexte physiologique, ce modèle expérimental permet d'évaluer la fonction propre du myocarde par des investigations standardisées qui permettent de s'affranchir des variations de FC, des modifications des conditions de charge cardiaque et

des facteurs circulants influençant la fonction. Dans de telles conditions, après avoir fait courir les rats pendant 4 heures sur un tapis roulant adapté, notre étude de la fonction cardiaque a clairement montré des baisses de l'ordre de 30% de la contractilité et de la relaxation intrinsèques du myocarde. Ce résultat est en accord avec ceux d'études antérieures ayant évalué la fonction cardiaque *ex vivo* après des EPP de nage (Venditti *et al.*, 2001) et de course (Wonders *et al.*, 2007). De plus, nous avons montré comme chez l'Homme, que ces dysfonctions étaient associées à une augmentation de la concentration des cTnI dans le plasma. Ainsi, un des résultats majeurs de l'étude n°3 a été de montrer qu'un EPP entraîne des dysfonctions cardiaques chez l'animal identiques à celles retrouvées chez l'Homme après des marathons ou des triathlons longue distance.

Toutefois, la mécanistique de la fatigue cardiaque induite par un EPP reste à ce jour mal connue. Une des hypothèses majeures de la littérature scientifique est l'implication d'une désensibilisation de la voie  $\beta$ -adrénergique dans ces dysfonctions (Maher *et al.*, 1972; Friedman *et al.*, 1987; Werle *et al.*, 1990). Plus récemment, parmi les mécanismes potentiels, le stress oxydant a été suggéré comme un acteur important impliqué dans la fatigue cardiaque (Lin *et al.*, 2006; Wonders *et al.*, 2007). Ainsi, dans l'étude n°3 nous avons exploré l'implication de la voie  $\beta$ -adrénergique et du stress oxydant dans l'apparition des troubles fonctionnels post-EPP.

### 3.2. Implication de la voie $\beta$ -adrénergique dans la fatigue cardiaque

Des travaux ont suggéré que la désensibilisation de la voie  $\beta$ -adrénergique pouvait être à l'origine des dysfonctions observées après un EPP (Maher *et al.*, 1972; Friedman *et al.*, 1987; Werle *et al.*, 1990). Cependant, ces résultats sont en désaccord avec d'autres (Martin *et*

*al.*, 1991). Ces différences peuvent s'expliquer par le fait qu'un EPP induit une augmentation du taux de catécholamines circulantes ou une altération des résistances vasculaires périphériques modulant la postcharge cardiaque. Dans notre étude, nous avons évalué l'implication de la voie  $\beta$ -adrénergique *in vivo* et *ex vivo*. L'analyse de la fonction cardiaque *in vivo* après l'EPP de course de 4 heures n'a révélé aucune modification de la réponse fonctionnelle du cœur à un stress  $\beta$ -adrénergique (*i.e.* isoprotérénol). L'utilisation de notre modèle *ex vivo* a permis de réaliser une dose-réponse à l'isoprotérénol et de réaliser une dose efficace 50 avant et après l'EPP. Un autre résultat majeur de cette étude a été de montrer qu'il n'existe aucune différence de réponse fonctionnelle des cœurs isolés des rats PSE par rapport aux rats Ctrl et que ceci est renforcé par le fait que la dose efficace d'isoprotérénol pour augmenter la pression développée dans le VG de 50% par rapport à la réponse maximale est identique pour les deux groupes d'animaux. Ainsi, ces résultats suggèrent fortement qu'une course de 4 heures n'altère pas la réponse du cœur à une stimulation  $\beta$ -adrénergique et que dans notre modèle *in vivo*, les dysfonctions cardiaques observées ne sont pas liées à une altération des récepteurs  $\beta$ -adrénergiques.

Parmi les mécanismes potentiels, le stress oxydant semble être un acteur important impliqué dans les dysfonctions observées post-EPP. En effet, des études récentes ont mis en évidence la présence d'un stress oxydant un niveau cardiaque par une augmentation de la concentration de MDA (*i.e.* marqueur de peroxydation lipidique) (Lin *et al.*, 2006; Wonders *et al.*, 2007) et une diminution du rapport GSH / GSSG (*i.e.* marqueur de statut redox intracellulaire) (Lin *et al.*, 2006) dans le tissu myocardique après un EPP chez le rat. Bien que nous n'ayons pas montré une augmentation de MDA dans le tissu myocardique, nos résultats ont prouvé la présence d'un stress oxydant mineur par la modification du rapport GSH / GSSG dans les cœurs isolés des rats coureurs. De manière intéressante, de plus en plus de

résultats soulignent l'implication importante de la Nox dans la production d'ERO au niveau cardiaque (Cave *et al.*, 2006; Murdoch *et al.*, 2006). De plus, l'activité de cette enzyme est augmentée à l'exercice (Sanchez *et al.*, 2008).

Dans ce contexte, le résultat majeur de notre étude a été de mettre évidence l'implication du stress oxydant produit *via* la Nox dans la baisse de fonction cardiaque des rats PSE. En effet, lorsque la Nox est inhibée chez les rats PSE traités à l'apocynine, la fonction cardiaque est en très grande partie restaurée. Ainsi, ces résultats identifient clairement la Nox comme enzyme productrice d'ERO engendrant un stress oxydant au niveau cardiaque et met en évidence un lien entre le stress oxydant produit par cette enzyme et l'altération du statut redox intracellulaire avec les baisses de fonction induites par un EPP de durée modérée.

### 3.3.Bilan

Grâce au modèle animal utilisé dans l'étude n°3, nous avons pu montrer qu'un EPP de durée modérée engendre des dysfonctions cardiaques chez l'animal semblables à celles observées chez l'Homme. L'évaluation de la fonction cardiaque *ex vivo* dans des conditions standardisés de FC et de charge cardiaque nous a permis d'affirmer la présence d'altérations intrinsèques de fonction myocardique et de montrer que ces altérations étaient associées à des dommages myocardiques. Alors que la désensibilisation de la voie  $\beta$ -adrénergique ne semble pas être impliquée dans les dysfonctions observée post-EPP, il apparaît que l'altération du statut redox intracellulaire induit par le stress oxydant produit *via* la Nox en soit en partie responsable.

#### 4. Limites des études de ce travail de doctorat

Les études cliniques possèdent certaines limites inhérentes aux méthodes employées du fait de leur caractère intégré. Ainsi, l'utilisation de l'échocardiographie à l'exercice est délicate par rapport à examen clinique réalisé en position classique de décubitus latéral au repos. En effet, l'augmentation de l'amplitude et de la fréquence des mouvements de la cage thoracique provoquées par l'augmentation de la respiration induit une diminution de la qualité de l'imagerie. Or la qualité de l'analyse de la fonction cardiaque par STE dépend beaucoup de la qualité de l'imagerie. Pour palier à ce problème, nous avons évalué la fonction cardiaque sur un ergocycle spécifique en position semi-allongée (eBike EL ergometer, GE Healthcare, Horten, Norway) et les images échocardiographiques ont été enregistrées en fin d'expiration lors d'un blocage respiratoire de quelques secondes. Ainsi, nous avons pu avoir des images de bonne qualité autorisant un retraitement des données *a posteriori* pour l'évaluation des déformations myocardiques et de la torsion.

Au cours de l'étude n°3, nous avons pu montrer le rôle important de la Nox dans la production d'un stress oxydant en partie responsable des dysfonctions cardiaques transitoires induites par un EPP. Cependant, d'autres sources de production d'ERO sont présentes dans le tissu cardiaque comme la mitochondrie ou la xanthine oxydase. De ce fait, il est impossible de connaître dans quelle proportion la Nox est impliquée dans ces dysfonctions post-EPP par rapport aux autres sources de production d'ERO. Enfin, nos évaluations ne permettent pas de comprendre précisément le lien entre l'augmentation du stress oxydant et la baisse de fonction, ce qui nécessite la mise en place d'études complémentaires, notamment concernant d'éventuels troubles de l'homéostasie calcique cardiaque.

## **Conclusion et perspectives**

心

L'approche clinique utilisée dans ce travail de doctorat, nous a permis de montrer qu'un EPP engendre des dysfonctions cardiaques transitoires. Plus particulièrement, nous avons montré grâce à l'utilisation d'une technique échocardiographique de dernière génération, que la baisse de la fonction systolique du VG était associée à une atteinte contractile du myocarde dans des conditions standardisées de FC et de charge cardiaque après un EPP de durée modérée. La diminution d'indices de contractilité comme l'onde S' moyenne évaluée par DTI (Seo *et al.*, 2010), la rotation apicale (Kim *et al.*, 2009), ainsi que les pics de vitesse des déformations myocardiques systoliques évaluées par STE (Greenberg *et al.*, 2002), nous ont permis de mettre en évidence une atteinte contractile intrinsèque du VG.

Nos résultats mettent également en évidence une diminution de la torsion ventriculaire après l'EPP. Dans une première perspective à court terme, il sera intéressant d'évaluer cette baisse de torsion dans la baisse de détorsion précoce du VG en tout début de diastole. Comme nous l'avons précisé dans la revue de la littérature, la torsion joue un rôle important dans le remplissage ventriculaire gauche. Celle-ci permet en effet d'emmagasiner de l'énergie élastique dans les composantes passives du tissu myocardique (Waldman *et al.*, 1988). La restitution de cette énergie en protodiastole lors de la détorsion (Notomi *et al.*, 2008) crée un gradient de pression intraventriculaire base / apex (Courtois *et al.*, 1988, 1990) responsable d'un effet de succion du sang dans la cavité ventriculaire en direction de l'apex, favorisant *in fine* le remplissage. Une étude récente réalisée au sein de notre laboratoire a mis en évidence le rôle clé de la torsion à l'effort dans le couplage systole-diastole (Doucende *et al.*, 2010). Il sera intéressant d'étudier ce couplage après un EPP pour éventuellement mettre en évidence l'implication de la baisse de torsion ventriculaire dans la baisse de fonction diastolique importante observée après l'effort.



Dans nos études, nous avons réalisé des évaluations des déformations myocardiques globales. Une deuxième perspective de travail sera de régionaliser les analyses en segmentant le ventricule en plusieurs zones. Au laboratoire, nous avons des données obtenus après EPP de durée modérée, (étude n°2), longue durée (acquises lors du triathlon distance « Ironman » d'Embrun en 2007) et de très longue durée (étude n°2). Un des objectifs pourra être d'étudier sous un angle régional la fatigue cardiaque en fonction de la durée de l'effort.

Au travers de l'étude fondamentale, nous avons entrepris l'exploration de la mécanistique sous-jacente aux atteintes fonctionnelles. Nous avons pu mettre en évidence le rôle important de la Nox dans la survenue des dysfonctions cardiaques post-EPP. Cette enzyme présente dans le tissu myocardique produit des  $O_2^-$  responsables d'une modulation du statut redox intracellulaire. Ces radicaux libres peuvent également favoriser la production d'un stress oxydant plus important *via* l'activation d'autre enzyme productrices d'ERO comme la xanthine oxydase (McNally *et al.*, 2003). Ainsi, il sera intéressant d'investiguer d'autres sources potentielles de production d'ERO au niveau du myocarde qui pourraient être stimulées par la production d' $O_2^-$  *via* la Nox à la suite d'un EPP. La mitochondrie pourrait être une première voie d'investigation que nous pourrions mener en collaboration avec l'unité INSERM U1055 « laboratoire de bioénergétique fondamentale et appliquée » de Grenoble.

Il sera également important d'explorer les conséquences du stress oxydant produit par la Nox sur différentes protéines impliqués dans le fonctionnement cardiaque et notamment celles impliquées dans le couplage excitation-contraction. En effet les ERO, dont les  $O_2^-$ , modifient l'activité des récepteurs à ryanodine myocardiques (Morad & Suzuki, 2000) et peuvent entraîner une augmentation de leur probabilité d'ouverture (Boraso & Williams, 1994). Ce phénomène favorise la réduction du contenu calcique du réticulum sarcoplasmique

qui réduit la quantité de  $\text{Ca}^{2+}$  susceptible d'être libérée lors de la phase de contraction suivante (Hobai & O'Rourke, 2001). L'augmentation de l'activité de la Nox à l'exercice (Sanchez *et al.*, 2008) pourrait amplifier ce phénomène et il sera pertinent d'investiguer l'effet d'un EPP sur la modulation de la fonction des récepteurs à ryanodine cardiaques *via* le stress oxydant produit par la Nox.

Les  $\text{O}_2^-$  produits par la Nox, ont également été impliqués dans la déphosphorylation des connexines 43 au niveau du myocarde chez des lapins souffrant d'insuffisance cardiaque (Liu *et al.*, 2010). Ces protéines font partie de la famille des jonctions communicantes ou « gap junctions » qui permettent notamment la conduction de l'influx électrique cardiaque de cellule à cellule. En cas de stress comme l'hypoxie, il se produit une déphosphorylation des connexines 43 qui altère leur fonctionnement. De plus, il a été rapporté une corrélation entre le nombre de connexines 43 déphosphorylées et la baisse de fonction cardiaque à la suite d'une hypoxie (Matsushita *et al.*, 2006). Il se pourrait donc que la déphosphorylation des connexines 43 puisse *per se* altérer la fonction cardiaque comme suggéré par d'autres (Saffitz & Yamada, 1998). Dans ce cadre, nous avons réalisé des évaluations complémentaires à celles de l'étude n°3 et nos résultats montrent qu'un EPP de 4 heures induit une déphosphorylation des connexines 43 et que celle-ci est reversée par le traitement à l'apocynine. Ainsi, le stress oxydant produit par la Nox semble moduler l'état de phosphorylation des connexines 43 qui pourrait, en partie, être impliqué dans les dysfonctions cardiaques observées à la suite de l'EPP.

Enfin, notre étude a fait l'objet d'un éditio dans la revue scientifique internationale avec comité de lecture « The Journal of Applied Physiology ». Dans ce document actuellement en cours d'impression intitulé « NADPH Oxidase - Short term foe, long term friend », le Dr WOOD du Massachusetts General Hospital, met l'accent sur le fait que le

stress oxydant produit par la Nox au cours d'un exercice d'endurance peut être de bonne augure pour la santé cardiovasculaire. Cet auteur suggère que la répétition de ce type de stress, *a priori* négatif pour le fonctionnement cardiaque, puisse en quelque sorte permettre le développement de voies de signalisation cellulaire adaptatives responsables d'une cardioprotection sur le long terme. L'exploration de cet aspect cardioprotecteur d'un EPP sur le fonctionnement cardiaque à long terme représente une perspective de recherche passionnante.

# **Bibliographie**

心

- Alessio HM. (1993). Exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc* **25**, 218-224.
- Alessio HM, Goldfarb AH & Cutler RG. (1988). MDA content increases in fast- and slow-twitch skeletal muscle with intensity of exercise in a rat. *Am J Physiol* **255**, C874-877.
- Alshaher M, El-Mallakh R, Dawn B, Siddiqui T, Longaker RA & Stoddard MF. (2007). Cardiac manifestations of exhaustive exercise in nonathletic adults: does cardiac fatigue occur? *Echocardiography* **24**, 237-242.
- Amundsen BH, Helle-Valle T, Edvardsen T, Torp H, Crosby J, Lyseggen E, Stoylen A, Ihlen H, Lima JA, Smiseth OA & Slordahl SA. (2006). Noninvasive myocardial strain measurement by speckle tracking echocardiography: validation against sonomicrometry and tagged magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol* **47**, 789-793.
- Anwar A, Schluter KD, Heger J, Piper HM & Euler G. (2008). Enhanced SERCA2A expression improves contractile performance of ventricular cardiomyocytes of rat under adrenergic stimulation. *Pflugers Arch* **457**, 485-491.
- Astrand PO & Saltin B. (1964). Plasma and Red Cell Volume after Prolonged Severe Exercise. *J Appl Physiol* **19**, 829-832.
- Banister EW, Tomanek RJ & Cvorkov N. (1971). Ultrastructural modifications in rat heart: responses to exercise and training. *Am J Physiol* **220**, 1935-1940.
- Banks L, Sasson Z, Busato M & Goodman JM. Impaired left and right ventricular function following prolonged exercise in young athletes: influence of exercise intensity and responses to dobutamine stress. *J Appl Physiol* **108**, 112-119.
- Belcastro AN, Parkhouse W, Dobson G & Gilchrist JS. (1988). Influence of exercise on cardiac and skeletal muscle myofibrillar proteins. *Mol Cell Biochem* **83**, 27-36.
- Berridge MJ, Bootman MD & Roderick HL. (2003). Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol* **4**, 517-529.
- Berry CE & Hare JM. (2004). Xanthine oxidoreductase and cardiovascular disease: molecular mechanisms and pathophysiological implications. *J Physiol* **555**, 589-606.
- Bers DM. (2002). Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature* **415**, 198-205.
- Bers DM & Weber CR. (2002). Na/Ca exchange function in intact ventricular myocytes. *Ann N Y Acad Sci* **976**, 500-512.
- Blair SN, Kampert JB, Kohl HW, 3rd, Barlow CE, Macera CA, Paffenbarger RS, Jr. & Gibbons LW. (1996). Influences of cardiorespiratory fitness and other precursors on cardiovascular disease and all-cause mortality in men and women. *JAMA* **276**, 205-210.

- Bleeker GB, Steendijk P, Holman ER, Yu CM, Breithardt OA, Kaandorp TA, Schalij MJ, van der Wall EE, Nihoyannopoulos P & Bax JJ. (2006). Assessing right ventricular function: the role of echocardiography and complementary technologies. *Heart* **92 Suppl 1**, i19-26.
- Bogaert J & Rademakers FE. (2001). Regional nonuniformity of normal adult human left ventricle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **280**, H610-620.
- Bolli R. (1990). Mechanism of myocardial "stunning". *Circulation* **82**, 723-738.
- Bolli R, Jeroudi MO, Patel BS, DuBose CM, Lai EK, Roberts R & McCay PB. (1989). Direct evidence that oxygen-derived free radicals contribute to postischemic myocardial dysfunction in the intact dog. *Proc Natl Acad Sci U S A* **86**, 4695-4699.
- Bolli R & Marban E. (1999). Molecular and cellular mechanisms of myocardial stunning. *Physiol Rev* **79**, 609-634.
- Bombardini T. (2005). Myocardial contractility in the echo lab: molecular, cellular and pathophysiological basis. *Cardiovasc Ultrasound* **3**, 27.
- Boraso A & Williams AJ. (1994). Modification of the gating of the cardiac sarcoplasmic reticulum Ca(2+)-release channel by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and dithiothreitol. *Am J Physiol* **267**, H1010-1016.
- Bristow MR, Ginsburg R, Umans V, Fowler M, Minobe W, Rasmussen R, Zera P, Menlove R, Shah P, Jamieson S & et al. (1986). Beta 1- and beta 2-adrenergic-receptor subpopulations in nonfailing and failing human ventricular myocardium: coupling of both receptor subtypes to muscle contraction and selective beta 1-receptor down-regulation in heart failure. *Circ Res* **59**, 297-309.
- Brutsaert DL & Sys SU. (1989). Relaxation and diastole of the heart. *Physiol Rev* **69**, 1228-1315.
- Buch J, Waldorff S, Hansen PB & Rasmussen OO. (1983). Non-invasive measuring of the circulatory effect of afterload reduction in order to monitor the pharmacodynamic effect of drugs in normal volunteers. *Br Heart J* **50**, 170-175.
- Burge CM & Skinner SL. (1995). Determination of hemoglobin mass and blood volume with CO: evaluation and application of a method. *J Appl Physiol* **79**, 623-631.
- Burkhoff D, Mirsky I & Suga H. (2005). Assessment of systolic and diastolic ventricular properties via pressure-volume analysis: a guide for clinical, translational, and basic researchers. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **289**, H501-512.
- Burns AT, La Gerche A, Prior DL & Macisaac AI. (2009). Left ventricular untwisting is an important determinant of early diastolic function. *JACC Cardiovasc Imaging* **2**, 709-

716.

- Burns AT, McDonald IG, Thomas JD, Macisaac A & Prior D. (2008). Doin' the twist: new tools for an old concept of myocardial function. *Heart* **94**, 978-983.
- Carrio I, Serra-Grima R, Berna L, Estorch M, Martinez-Duncker C & Ordonez J. (1990). Transient alterations in cardiac performance after a six-hour race. *Am J Cardiol* **65**, 1471-1474.
- Cave AC, Brewer AC, Narayanapanicker A, Ray R, Grieve DJ, Walker S & Shah AM. (2006). NADPH oxidases in cardiovascular health and disease. *Antioxid Redox Signal* **8**, 691-728.
- Cerqueira MD, Weissman NJ, Dilsizian V, Jacobs AK, Kaul S, Laskey WK, Pennell DJ, Rumberger JA, Ryan T & Verani MS. (2002). Standardized myocardial segmentation and nomenclature for tomographic imaging of the heart: a statement for healthcare professionals from the Cardiac Imaging Committee of the Council on Clinical Cardiology of the American Heart Association. *Circulation* **105**, 539-542.
- Chan-Dewar F, Oxborough D, Shave R, Gregson W, Whyte G, Noakes T & George K. Evidence of increased electro-mechanical delay in the left and right ventricle after prolonged exercise. *Eur J Appl Physiol* **108**, 581-587.
- Chemla D, Coirault C, Hebert JL & Lecarpentier Y. (2000). Mechanics of Relaxation of the Human Heart. *News Physiol Sci* **15**, 78-83.
- Chen Y, Serfass RC, Mackey-Bojack SM, Kelly KL, Titus JL & Apple FS. (2000a). Cardiac troponin T alterations in myocardium and serum of rats after stressful, prolonged intense exercise. *J Appl Physiol* **88**, 1749-1755.
- Chen YJ, Serfass RC & Apple FS. (2000b). Loss of myocardial CK-MB into the circulation following 3.5 hours of swimming in a rat model. *Int J Sports Med* **21**, 561-565.
- Claessens PJ, Claessens CW, Claessens MM, Claessens MC & Claessens JE. (2001). Supernormal left ventricular diastolic function in triathletes. *Tex Heart Inst J* **28**, 102-110.
- Courtois M, Kovacs SJ, Jr. & Ludbrook PA. (1988). Transmitral pressure-flow velocity relation. Importance of regional pressure gradients in the left ventricle during diastole. *Circulation* **78**, 661-671.
- Courtois M, Kovacs SJ & Ludbrook PA. (1990). Physiological early diastolic intraventricular pressure gradient is lost during acute myocardial ischemia. *Circulation* **81**, 1688-1696.
- D'Andrea A, Caso P, Salerno G, Scarafile R, De Corato G, Mita C, Di Salvo G, Severino S, Cuomo S, Liccardo B, Esposito N & Calabro R. (2007). Left ventricular early myocardial dysfunction after chronic misuse of anabolic androgenic steroids: a

- Doppler myocardial and strain imaging analysis. *Br J Sports Med* **41**, 149-155.
- Davila-Roman VG, Guest TM, Tuteur PG, Rowe WJ, Ladenson JH & Jaffe AS. (1997). Transient right but not left ventricular dysfunction after strenuous exercise at high altitude. *J Am Coll Cardiol* **30**, 468-473.
- Dawson EA, Shave R, George K, Whyte G, Ball D, Gaze D & Collinson P. (2005). Cardiac drift during prolonged exercise with echocardiographic evidence of reduced diastolic function of the heart. *Eur J Appl Physiol* **94**, 305-309.
- Dawson EA, Shave R, Whyte G, Ball D, Selmer C, Jans O, Secher NH & George KP. (2007). Preload maintenance and the left ventricular response to prolonged exercise in men. *Exp Physiol* **92**, 383-390.
- Dawson EA, Whyte GP, Black MA, Jones H, Hopkins N, Oxborough D, Gaze D, Shave RE, Wilson M, George KP & Green DJ. (2008). Changes in vascular and cardiac function after prolonged strenuous exercise in humans. *J Appl Physiol* **105**, 1562-1568.
- Delgado J, Saborido A, Moran M & Megias A. (1999). Chronic and acute exercise do not alter Ca<sup>2+</sup> regulatory systems and ectonucleotidase activities in rat heart. *J Appl Physiol* **87**, 152-160.
- Devereux RB, Alonso DR, Lutas EM, Gottlieb GJ, Campo E, Sachs I & Reichek N. (1986). Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *Am J Cardiol* **57**, 450-458.
- Di Bello V, Santoro G, Talarico L, Di Muro C, Caputo MT, Giorgi D, Bertini A, Bianchi M & Giusti C. (1996). Left ventricular function during exercise in athletes and in sedentary men. *Med Sci Sports Exerc* **28**, 190-196.
- di Prampero PE. (2003). Factors limiting maximal performance in humans. *Eur J Appl Physiol* **90**, 420-429.
- Dillard CJ, Litov RE, Savin WM, Dumelin EE & Tappel AL. (1978). Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. *J Appl Physiol* **45**, 927-932.
- Dong SJ, Hees PS, Siu CO, Weiss JL & Shapiro EP. (2001). MRI assessment of LV relaxation by untwisting rate: a new isovolumic phase measure of tau. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **281**, H2002-2009.
- Doucende G, Schuster I, Rupp T, Startun A, Dauzat M, Obert P & Nottin S. Kinetics of left ventricular strains and torsion during incremental exercise in healthy subjects: the key role of torsional mechanics for systolic-diastolic coupling. *Circ Cardiovasc Imaging* **3**, 586-594.
- Douglas PS, O'Toole ML, Hiller WD, Hackney K & Reichek N. (1987). Cardiac fatigue after



- prolonged exercise. *Circulation* **76**, 1206-1213.
- Douglas PS, O'Toole ML, Hiller WD & Reichek N. (1990). Different effects of prolonged exercise on the right and left ventricles. *J Am Coll Cardiol* **15**, 64-69.
- Douglas PS, O'Toole ML & Katz SE. (1998). Prolonged exercise alters cardiac chronotropic responsiveness in endurance athletes. *J Sports Med Phys Fitness* **38**, 158-163.
- Eysmann SB, Gervino E, Vatner DE, Katz SE, Decker L & Douglas PS. (1996). Prolonged exercise alters beta-adrenergic responsiveness in healthy sedentary humans. *J Appl Physiol* **80**, 616-622.
- Fabiato A. (1983). Calcium-induced release of calcium from the cardiac sarcoplasmic reticulum. *Am J Physiol* **245**, C1-14.
- Fagard R, Aubert A, Lysens R, Staessen J, Vanhees L & Amery A. (1983). Noninvasive assessment of seasonal variations in cardiac structure and function in cyclists. *Circulation* **67**, 896-901.
- Fallon KE, Sivyer G, Sivyer K & Dare A. (1999). The biochemistry of runners in a 1600 km ultramarathon. *Br J Sports Med* **33**, 264-269.
- Firstenberg MS, Levine BD, Garcia MJ, Greenberg NL, Cardon L, Morehead AJ, Zuckerman J & Thomas JD. (2000). Relationship of echocardiographic indices to pulmonary capillary wedge pressures in healthy volunteers. *J Am Coll Cardiol* **36**, 1664-1669.
- Friedman DB, Ordway GA & Williams RS. (1987). Exercise-induced functional desensitization of canine cardiac beta-adrenergic receptors. *J Appl Physiol* **62**, 1721-1723.
- George K, Oxborough D, Forster J, Whyte G, Shave R, Dawson E, Stephenson C, Dugdill L, Edwards B & Gaze D. (2005). Mitral annular myocardial velocity assessment of segmental left ventricular diastolic function after prolonged exercise in humans. *J Physiol* **569**, 305-313.
- George K, Shave R, Oxborough D, Cable T, Dawson E, Artis N, Gaze D, Hew-Butler T, Sharwood K & Noakes T. (2009). Left ventricular wall segment motion after ultra-endurance exercise in humans assessed by myocardial speckle tracking. *Eur J Echocardiogr* **10**, 238-243.
- George K, Shave R, Oxborough D, Whyte G & Dawson E. (2006). Longitudinal and radial systolic myocardial tissue velocities after prolonged exercise. *Appl Physiol Nutr Metab* **31**, 256-260.
- George K, Whyte G, Stephenson C, Shave R, Dawson E, Edwards B, Gaze D & Collinson P. (2004). Postexercise left ventricular function and cTnT in recreational marathon runners. *Med Sci Sports Exerc* **36**, 1709-1715.

- George KP, Gates PE, Whyte G, Fenoglio RA & Lea R. (1999). Echocardiographic examination of cardiac structure and function in elite cross trained male and female Alpine skiers. *Br J Sports Med* **33**, 93-98; discussion 99.
- Geyer H, Caracciolo G, Abe H, Wilansky S, Carerj S, Gentile F, Nesser HJ, Khandheria B, Narula J & Sengupta PP. Assessment of myocardial mechanics using speckle tracking echocardiography: fundamentals and clinical applications. *J Am Soc Echocardiogr* **23**, 351-369; quiz 453-355.
- Giordano FJ. (2005). Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. *J Clin Invest* **115**, 500-508.
- Glance BW, Murphy CA & McHugh MP. (2002). Food intake and electrolyte status of ultramarathoners competing in extreme heat. *J Am Coll Nutr* **21**, 553-559.
- Goodman JM, Busato GM, Frey E & Sasson Z. (2009). Left ventricular contractile function is preserved during prolonged exercise in middle-aged men. *J Appl Physiol* **106**, 494-499.
- Goodman JM, McLaughlin PR & Liu PP. (2001). Left ventricular performance during prolonged exercise: absence of systolic dysfunction. *Clin Sci (Lond)* **100**, 529-537.
- Gorcsan J, 3rd, Deswal A, Mankad S, Mandarino WA, Mahler CM, Yamazaki N & Katz WE. (1998). Quantification of the myocardial response to low-dose dobutamine using tissue Doppler echocardiographic measures of velocity and velocity gradient. *Am J Cardiol* **81**, 615-623.
- Granzier H, Wu Y, Siegfried L & LeWinter M. (2005). Titin: physiological function and role in cardiomyopathy and failure. *Heart Fail Rev* **10**, 211-223.
- Greenbaum RA, Ho SY, Gibson DG, Becker AE & Anderson RH. (1981). Left ventricular fibre architecture in man. *Br Heart J* **45**, 248-263.
- Greenberg NL, Firstenberg MS, Castro PL, Main M, Travaglini A, Odabashian JA, Drinko JK, Rodriguez LL, Thomas JD & Garcia MJ. (2002). Doppler-derived myocardial systolic strain rate is a strong index of left ventricular contractility. *Circulation* **105**, 99-105.
- Griendling KK, Sorescu D & Ushio-Fukai M. (2000). NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. *Circ Res* **86**, 494-501.
- Grimditch GK, Barnard RJ & Duncan HW. (1981). Effect of exhaustive exercise on myocardial performance. *J Appl Physiol* **51**, 1098-1102.
- Grimm M & Brown JH. Beta-adrenergic receptor signaling in the heart: role of CaMKII. *J Mol Cell Cardiol* **48**, 322-330.

- Gul M, Demircan B, Taysi S, Oztasan N, Gumustekin K, Siktar E, Polat MF, Akar S, Akcay F & Dane S. (2006). Effects of endurance training and acute exhaustive exercise on antioxidant defense mechanisms in rat heart. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* **143**, 239-245.
- Gunter TE, Gunter KK, Sheu SS & Gavin CE. (1994). Mitochondrial calcium transport: physiological and pathological relevance. *Am J Physiol* **267**, C313-339.
- Halliwell B & Gutteridge JM. (1990). The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys* **280**, 1-8.
- Hammond HK, White FC, Brunton LL & Longhurst JC. (1987). Association of decreased myocardial beta-receptors and chronotropic response to isoproterenol and exercise in pigs following chronic dynamic exercise. *Circ Res* **60**, 720-726.
- Hanssen H, Keithahn A, Hertel G, Drexel V, Stern H, Schuster T, Lorang D, Beer AJ, Schmidt-Trucksass A, Nickel T, Weis M, Botnar R, Schwaiger M & Halle M. Magnetic resonance imaging of myocardial injury and ventricular torsion after marathon running. *Clin Sci (Lond)* **120**, 143-152.
- Hart E, Dawson E, Rasmussen P, George K, Secher NH, Whyte G & Shave R. (2006). Beta-adrenergic receptor desensitization in man: insight into post-exercise attenuation of cardiac function. *J Physiol* **577**, 717-725.
- Hart E, Shave R, Middleton N, George K, Whyte G & Oxborough D. (2007). Effect of preload augmentation on pulsed wave and tissue Doppler echocardiographic indices of diastolic function after a marathon. *J Am Soc Echocardiogr* **20**, 1393-1399.
- Hassan MY, Noakes TD, Berlyn P, Shave R & George K. (2006). Preload maintenance protects against a depression in left ventricular systolic, but not diastolic, function immediately after ultraendurance exercise. *Br J Sports Med* **40**, 536-540; discussion 540.
- Haykowsky M, Welsh R, Humen D, Warburton D & Taylor D. (2001). Impaired left ventricular systolic function after a half-ironman race. *Can J Cardiol* **17**, 687-690.
- Heidbuchel H, Hoogsteen J, Fagard R, Vanhees L, Ector H, Willems R & Van Lierde J. (2003). High prevalence of right ventricular involvement in endurance athletes with ventricular arrhythmias. Role of an electrophysiologic study in risk stratification. *Eur Heart J* **24**, 1473-1480.
- Helle-Valle T, Crosby J, Edvardsen T, Lyseggen E, Amundsen BH, Smith HJ, Rosen BD, Lima JA, Torp H, Ihlen H & Smiseth OA. (2005). New noninvasive method for assessment of left ventricular rotation: speckle tracking echocardiography. *Circulation* **112**, 3149-3156.

- Henson RE, Song SK, Pastorek JS, Ackerman JJ & Lorenz CH. (2000). Left ventricular torsion is equal in mice and humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **278**, H1117-1123.
- Hobai IA & O'Rourke B. (2001). Decreased sarcoplasmic reticulum calcium content is responsible for defective excitation-contraction coupling in canine heart failure. *Circulation* **103**, 1577-1584.
- Hurlburt HM, Aurigemma GP, Hill JC, Narayanan A, Gaasch WH, Vinch CS, Meyer TE & Tighe DA. (2007). Direct ultrasound measurement of longitudinal, circumferential, and radial strain using 2-dimensional strain imaging in normal adults. *Echocardiography* **24**, 723-731.
- Ichas F & Mazat JP. (1998). From calcium signaling to cell death: two conformations for the mitochondrial permeability transition pore. Switching from low- to high-conductance state. *Biochim Biophys Acta* **1366**, 33-50.
- Izawa T, Komabayashi T, Suda K, Kunisada Y, Shinoda S & Tsuboi M. (1989). An acute exercise-induced translocation of beta-adrenergic receptors in rat myocardium. *J Biochem* **105**, 110-113.
- Jackson MJ, Edwards RH & Symons MC. (1985). Electron spin resonance studies of intact mammalian skeletal muscle. *Biochim Biophys Acta* **847**, 185-190.
- Jenkins RR. (1988). Free radical chemistry. Relationship to exercise. *Sports Med* **5**, 156-170.
- Kako KJ. (1987). Free radical effects on membrane protein in myocardial ischemia/reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol* **19**, 209-211.
- Kasner M, Westermann D, Steendijk P, Gaub R, Wilkenshoff U, Weitmann K, Hoffmann W, Poller W, Schultheiss HP, Pauschinger M & Tschope C. (2007). Utility of Doppler echocardiography and tissue Doppler imaging in the estimation of diastolic function in heart failure with normal ejection fraction: a comparative Doppler-conductance catheterization study. *Circulation* **116**, 637-647.
- Kawakami M & Okabe E. (1998). Superoxide anion radical-triggered Ca<sup>2+</sup> release from cardiac sarcoplasmic reticulum through ryanodine receptor Ca<sup>2+</sup> channel. *Mol Pharmacol* **53**, 497-503.
- Ketelhut R, Losem CJ & Messerli FH. (1994). Is a decrease in arterial pressure during long-term aerobic exercise caused by a fall in cardiac pump function? *Am Heart J* **127**, 567-571.
- Kim HK, Sohn DW, Lee SE, Choi SY, Park JS, Kim YJ, Oh BH, Park YB & Choi YS. (2007). Assessment of left ventricular rotation and torsion with two-dimensional speckle tracking echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* **20**, 45-53.

- Kim WJ, Lee BH, Kim YJ, Kang JH, Jung YJ, Song JM, Kang DH & Song JK. (2009). Apical rotation assessed by speckle-tracking echocardiography as an index of global left ventricular contractility. *Circ Cardiovasc Imaging* **2**, 123-131.
- King DW & Gollnick PD. (1970). Ultrastructure of rat heart and liver after exhaustive exercise. *Am J Physiol* **218**, 1150-1155.
- Kitakaze M, Weisman HF & Marban E. (1988). Contractile dysfunction and ATP depletion after transient calcium overload in perfused ferret hearts. *Circulation* **77**, 685-695.
- La Gerche A, Boyle A, Wilson AM & Prior DL. (2004). No evidence of sustained myocardial injury following an Ironman distance triathlon. *Int J Sports Med* **25**, 45-49.
- La Gerche A, Connelly KA, Mooney DJ, MacIsaac AI & Prior DL. (2008). Biochemical and functional abnormalities of left and right ventricular function after ultra-endurance exercise. *Heart* **94**, 860-866.
- Laguens RP & Gomez-Dumm CL. (1967). Fine structure of myocardial mitochondria in rats after exercise for one-half to two hours. *Circ Res* **21**, 271-279.
- Laguens RP, Lozada BB, Gomez Dumm CL & Beramendi AR. (1966). Effect of acute and exhaustive exercise upon the fine structure of heart mitochondria. *Experientia* **22**, 244-246.
- Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, Picard MH, Roman MJ, Seward J, Shanewise JS, Solomon SD, Spencer KT, Sutton MS & Stewart WJ. (2005). Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr* **18**, 1440-1463.
- Leitman M, Lysyansky P, Sidenko S, Shir V, Peleg E, Binenbaum M, Kaluski E, Krakover R & Vered Z. (2004). Two-dimensional strain-a novel software for real-time quantitative echocardiographic assessment of myocardial function. *J Am Soc Echocardiogr* **17**, 1021-1029.
- Lemasters JJ, Theruvath TP, Zhong Z & Nieminen AL. (2009). Mitochondrial calcium and the permeability transition in cell death. *Biochim Biophys Acta* **1787**, 1395-1401.
- Lin WT, Yang SC, Tsai SC, Huang CC & Lee NY. (2006). L-Arginine attenuates xanthine oxidase and myeloperoxidase activities in hearts of rats during exhaustive exercise. *Br J Nutr* **95**, 67-75.
- Little WC, Kitzman DW & Cheng CP. (2000). Diastolic dysfunction as a cause of exercise intolerance. *Heart Fail Rev* **5**, 301-306.

- Liu Y, Huang H, Xia W, Tang Y, Yuan M, Tang Q & Huang C. Inhibition of NADPH oxidase up-regulates connexin 43 and ameliorates electrical remodeling in rabbits with heart failure. *Biomed Pharmacother.*
- Lucia A, Moran M, Perez M, Saborido A, Diaz E, Megias A & Chicharro JL. (1999). Short-term effects of marathon running in master runners: no evidence of myocardial injury. *Int J Sports Med* **20**, 482-486.
- Maack C & O'Rourke B. (2007). Excitation-contraction coupling and mitochondrial energetics. *Basic Res Cardiol* **102**, 369-392.
- MacFarlane NG & Miller DJ. (1992). Depression of peak force without altering calcium sensitivity by the superoxide anion in chemically skinned cardiac muscle of rat. *Circ Res* **70**, 1217-1224.
- Maher JT, Goodman AL, Francesconi R, Bowers WD, Hartley LH & Angelakos ET. (1972). Responses of rat myocardium to exhaustive exercise. *Am J Physiol* **222**, 207-212.
- Manier G, Wickers F, Lomenech AM, Cazorla G & Roudaut R. (1991). Echocardiographic assessment of myocardial performance after prolonged strenuous exercise. *Eur Heart J* **12**, 1183-1188.
- Marr CM, Bright JM, Marlin DJ, Harris PA & Roberts CA. (1999). Pre- and post exercise echocardiography in horses performing treadmill exercise in cool and hot/humid conditions. *Equine Vet J Suppl* **30**, 131-136.
- Martin WH, 3rd, Spina RJ, Korte E & Ogawa T. (1991). Effects of chronic and acute exercise on cardiovascular beta-adrenergic responses. *J Appl Physiol* **71**, 1523-1528.
- Matsushita S, Kurihara H, Watanabe M, Okada T, Sakai T & Amano A. (2006). Alterations of phosphorylation state of connexin 43 during hypoxia and reoxygenation are associated with cardiac function. *J Histochem Cytochem* **54**, 343-353.
- McGavock J, Haykowsky M, Warburton D, Taylor D, Quinney A & Welsh R. (2003). Left ventricular systolic performance during prolonged strenuous exercise in female triathletes. *Dyn Med* **2**, 2.
- McNally JS, Davis ME, Giddens DP, Saha A, Hwang J, Dikalov S, Jo H & Harrison DG. (2003). Role of xanthine oxidoreductase and NAD(P)H oxidase in endothelial superoxide production in response to oscillatory shear stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **285**, H2290-2297.
- Middleton N, Shave R, George K, Whyte G, Hart E & Atkinson G. (2006). Left ventricular function immediately following prolonged exercise: A meta-analysis. *Med Sci Sports Exerc* **38**, 681-687.
- Misra MK, Sarwat M, Bhakuni P, Tuteja R & Tuteja N. (2009). Oxidative stress and ischemic

- myocardial syndromes. *Med Sci Monit* **15**, RA209-219.
- Morad M & Suzuki YJ. (2000). Redox regulation of cardiac muscle calcium signaling. *Antioxid Redox Signal* **2**, 65-71.
- Murdoch CE, Zhang M, Cave AC & Shah AM. (2006). NADPH oxidase-dependent redox signalling in cardiac hypertrophy, remodelling and failure. *Cardiovasc Res* **71**, 208-215.
- Murphy JG, Marsh JD & Smith TW. (1987). The role of calcium in ischemic myocardial injury. *Circulation* **75**, V15-24.
- Nagashima K, Wu J, Kavouras SA & Mack GW. (2001). Increased renal tubular sodium reabsorption during exercise-induced hypervolemia in humans. *J Appl Physiol* **91**, 1229-1236.
- Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC, Marino PN, Oh JK, Smiseth OA, Waggoner AD, Flachskampf FA, Pellikka PA & Evangelista A. (2009). Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* **22**, 107-133.
- Nagueh SF, Middleton KJ, Kopelen HA, Zoghbi WA & Quinones MA. (1997). Doppler tissue imaging: a noninvasive technique for evaluation of left ventricular relaxation and estimation of filling pressures. *J Am Coll Cardiol* **30**, 1527-1533.
- Neilan TG, Januzzi JL, Lee-Lewandrowski E, Ton-Nu TT, Yoerger DM, Jassal DS, Lewandrowski KB, Siegel AJ, Marshall JE, Douglas PS, Lawlor D, Picard MH & Wood MJ. (2006a). Myocardial injury and ventricular dysfunction related to training levels among nonelite participants in the Boston marathon. *Circulation* **114**, 2325-2333.
- Neilan TG, Yoerger DM, Douglas PS, Marshall JE, Halpern EF, Lawlor D, Picard MH & Wood MJ. (2006b). Persistent and reversible cardiac dysfunction among amateur marathon runners. *Eur Heart J* **27**, 1079-1084.
- Nesbitt GC, Mankad S & Oh JK. (2009). Strain imaging in echocardiography: methods and clinical applications. *Int J Cardiovasc Imaging* **25 Suppl 1**, 9-22.
- Nie J, Close G, George KP, Tong TK & Shi Q. Temporal association of elevations in serum cardiac troponin T and myocardial oxidative stress after prolonged exercise in rats. *Eur J Appl Physiol* **110**, 1299-1303.
- Niemela K, Palatsi I, Ikaheimo M, Airaksinen J & Takkunen J. (1987). Impaired left ventricular diastolic function in athletes after utterly strenuous prolonged exercise. *Int J Sports Med* **8**, 61-65.
- Niemela KO, Palatsi IJ, Ikaheimo MJ, Takkunen JT & Vuori JJ. (1984). Evidence of impaired

- left ventricular performance after an uninterrupted competitive 24 hour run. *Circulation* **70**, 350-356.
- Nikolic SD, Feneley MP, Pajaro OE, Rankin JS & Yellin EL. (1995). Origin of regional pressure gradients in the left ventricle during early diastole. *Am J Physiol* **268**, H550-557.
- Notomi Y, Martin-Miklovic MG, Oryszak SJ, Shiota T, Deserranno D, Popovic ZB, Garcia MJ, Greenberg NL & Thomas JD. (2006). Enhanced ventricular untwisting during exercise: a mechanistic manifestation of elastic recoil described by Doppler tissue imaging. *Circulation* **113**, 2524-2533.
- Notomi Y, Popovic ZB, Yamada H, Wallick DW, Martin MG, Oryszak SJ, Shiota T, Greenberg NL & Thomas JD. (2008). Ventricular untwisting: a temporal link between left ventricular relaxation and suction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **294**, H505-513.
- Nottin S, Doucende G, Schuster I, Tanguy S, Dauzat M & Obert P. (2009). Alteration in left ventricular strains and torsional mechanics after ultralong duration exercise in athletes. *Circ Cardiovasc Imaging* **2**, 323-330.
- Nottin S, Nguyen LD, Terbah M & Obert P. (2004). Long-term endurance training does not prevent the age-related decrease in left ventricular relaxation properties. *Acta Physiol Scand* **181**, 209-215.
- Okabe E, Tsujimoto Y & Kobayashi Y. (2000). Calmodulin and cyclic ADP-ribose interaction in Ca<sup>2+</sup> signaling related to cardiac sarcoplasmic reticulum: superoxide anion radical-triggered Ca<sup>2+</sup> release. *Antioxid Redox Signal* **2**, 47-54.
- Oxborough D, Birch K, Shave R & George K. "Exercise-induced cardiac fatigue"--a review of the echocardiographic literature. *Echocardiography* **27**, 1130-1140.
- Oxborough D, Shave R, Middleton N, Whyte G, Forster J & George K. (2006). The impact of marathon running upon ventricular function as assessed by 2D, Doppler, and tissue-Doppler echocardiography. *Echocardiography* **23**, 635-641.
- Pacher P, Beckman JS & Liaudet L. (2007). Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev* **87**, 315-424.
- Palatini P, Bongiovi S, Macor F, Michieletto M, Mario L, Schiraldi C & Pessina AC. (1994). Left ventricular performance during prolonged exercise and early recovery in healthy subjects. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **69**, 396-401.
- Pellikka PA, Nagueh SF, Elhendy AA, Kuehl CA & Sawada SG. (2007). American Society of Echocardiography recommendations for performance, interpretation, and application of stress echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* **20**, 1021-1041.



- Pelosi G & Agliati G. (1968). The heart muscle in functional overload and hypoxia. A biochemical and ultrastructural study. *Lab Invest* **18**, 86-93.
- Perez AC, Cabral de Oliveira AC, Estevez E, Molina AJ, Prieto JG & Alvarez AI. (2003). Mitochondrial, sarcoplasmic membrane integrity and protein degradation in heart and skeletal muscle in exercised rats. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* **134**, 199-206.
- Perrault H, Peronnet F, Lebeau R & Nadeau RA. (1986). Echocardiographic assessment of left ventricular performance before and after marathon running. *Am Heart J* **112**, 1026-1031.
- Pierce GN, Kutryk MJ, Dhalla KS, Beamish RE & Dhalla NS. (1984). Biochemical alterations in heart after exhaustive swimming in rats. *J Appl Physiol* **57**, 326-331.
- Pluim BM, Zwinderman AH, van der Laarse A & van der Wall EE. (2000). The athlete's heart. A meta-analysis of cardiac structure and function. *Circulation* **101**, 336-344.
- Pugh LG. (1969). Blood volume changes in outdoor exercise of 8-10 hour duration. *J Physiol* **200**, 345-351.
- Quintanilha AT & Packer L. (1983). Vitamin E, physical exercise and tissue oxidative damage. *Ciba Found Symp* **101**, 56-69.
- Rassi A, Jr., Crawford MH, Richards KL & Miller JF. (1988). Differing mechanisms of exercise flow augmentation at the mitral and aortic valves. *Circulation* **77**, 543-551.
- Reid MB, Shoji T, Moody MR & Entman ML. (1992). Reactive oxygen in skeletal muscle. II. Extracellular release of free radicals. *J Appl Physiol* **73**, 1805-1809.
- Reisner SA, Lysyansky P, Agmon Y, Mutlak D, Lessick J & Friedman Z. (2004). Global longitudinal strain: a novel index of left ventricular systolic function. *J Am Soc Echocardiogr* **17**, 630-633.
- Rifai N, Douglas PS, O'Toole M, Rimm E & Ginsburg GS. (1999). Cardiac troponin T and I, echocardiographic [correction of electrocardiographic] wall motion analyses, and ejection fractions in athletes participating in the Hawaii Ironman Triathlon. *Am J Cardiol* **83**, 1085-1089.
- Rivas-Gotz C, Manolios M, Thohan V & Nagueh SF. (2003). Impact of left ventricular ejection fraction on estimation of left ventricular filling pressures using tissue Doppler and flow propagation velocity. *Am J Cardiol* **91**, 780-784.
- Rockman HA, Koch WJ & Lefkowitz RJ. (2002). Seven-transmembrane-spanning receptors and heart function. *Nature* **415**, 206-212.
- Ruan Q & Nagueh SF. (2006). Usefulness of isovolumic and systolic ejection signals by

- tissue Doppler for the assessment of left ventricular systolic function in ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* **97**, 872-875.
- Saffitz JE & Yamada KA. (1998). Do alterations in intercellular coupling play a role in cardiac contractile dysfunction? *Circulation* **97**, 630-632.
- Sahn DJ, DeMaria A, Kisslo J & Weyman A. (1978). Recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements. *Circulation* **58**, 1072-1083.
- Saltin B & Stenberg J. (1964). Circulatory Response to Prolonged Severe Exercise. *J Appl Physiol* **19**, 833-838.
- Sanchez G, Escobar M, Pedrozo Z, Macho P, Domenech R, Hartel S, Hidalgo C & Donoso P. (2008). Exercise and tachycardia increase NADPH oxidase and ryanodine receptor-2 activity: possible role in cardioprotection. *Cardiovasc Res* **77**, 380-386.
- Scharhag J, Urhausen A, Schneider G, Herrmann M, Schumacher K, Haschke M, Krieg A, Meyer T, Herrmann W & Kindermann W. (2006). Reproducibility and clinical significance of exercise-induced increases in cardiac troponins and N-terminal pro brain natriuretic peptide in endurance athletes. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* **13**, 388-397.
- Schiller NB, Shah PM, Crawford M, DeMaria A, Devereux R, Feigenbaum H, Gutgesell H, Reichek N, Sahn D, Schnittger I & et al. (1989). Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography. American Society of Echocardiography Committee on Standards, Subcommittee on Quantitation of Two-Dimensional Echocardiograms. *J Am Soc Echocardiogr* **2**, 358-367.
- Scott JM, Esch BT, Haykowsky MJ, Isserow S, Koehle MS, Hughes BG, Zbogor D, Bredin SS, McKenzie DC & Warburton DE. (2007). Sex differences in left ventricular function and beta-receptor responsiveness following prolonged strenuous exercise. *J Appl Physiol* **102**, 681-687.
- Scott JM, Esch BT, Shave R, Warburton DE, Gaze D & George K. (2009). Cardiovascular consequences of completing a 160-km ultramarathon. *Med Sci Sports Exerc* **41**, 26-34.
- Scott JM & Warburton DE. (2008). Mechanisms underpinning exercise-induced changes in left ventricular function. *Med Sci Sports Exerc* **40**, 1400-1407.
- Seals DR, Rogers MA, Hagberg JM, Yamamoto C, Cryer PE & Ehsani AA. (1988). Left ventricular dysfunction after prolonged strenuous exercise in healthy subjects. *Am J Cardiol* **61**, 875-879.
- Sen CK. (1995). Oxidants and antioxidants in exercise. *J Appl Physiol* **79**, 675-686.
- Sengupta PP, Khandheria BK, Korinek J, Wang J, Jahangir A, Seward JB & Belohlavek M.

- (2006a). Apex-to-base dispersion in regional timing of left ventricular shortening and lengthening. *J Am Coll Cardiol* **47**, 163-172.
- Sengupta PP, Korinek J, Belohlavek M, Narula J, Vannan MA, Jahangir A & Khandheria BK. (2006b). Left ventricular structure and function: basic science for cardiac imaging. *J Am Coll Cardiol* **48**, 1988-2001.
- Seo JS, Kim DH, Kim WJ, Song JM, Kang DH & Song JK. Peak systolic velocity of mitral annular longitudinal movement measured by pulsed tissue Doppler imaging as an index of global left ventricular contractility. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **298**, H1608-1615.
- Serri K, Reant P, Lafitte M, Berhouet M, Le Bouffos V, Roudaut R & Lafitte S. (2006). Global and regional myocardial function quantification by two-dimensional strain: application in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* **47**, 1175-1181.
- Seward SW, Seiler KS & Starnes JW. (1995). Intrinsic myocardial function and oxidative stress after exhaustive exercise. *J Appl Physiol* **79**, 251-255.
- Shave R, Dawson E, Whyte G, George K, Gaze D & Collinson P. (2004). Altered cardiac function and minimal cardiac damage during prolonged exercise. *Med Sci Sports Exerc* **36**, 1098-1103.
- Shave RE, Dawson E, Whyte G, George K, Ball D, Gaze DC & Collinson PO. (2002). Evidence of exercise-induced cardiac dysfunction and elevated cTnT in separate cohorts competing in an ultra-endurance mountain marathon race. *Int J Sports Med* **23**, 489-494.
- Speedy DB, Noakes TD, Kimber NE, Rogers IR, Thompson JM, Boswell DR, Ross JJ, Campbell RG, Gallagher PG & Kuttner JA. (2001). Fluid balance during and after an ironman triathlon. *Clin J Sport Med* **11**, 44-50.
- Starkie RL, Rolland J, Angus DJ, Anderson MJ & Febbraio MA. (2001). Circulating monocytes are not the source of elevations in plasma IL-6 and TNF-alpha levels after prolonged running. *Am J Physiol Cell Physiol* **280**, C769-774.
- Stefani L, De Luca A, Maffulli N, Mercuri R, Innocenti G, Suliman I, Toncelli L, Vono MC, Cappelli B, Pedri S, Pedrizzetti G & Galanti G. (2009). Speckle tracking for left ventricle performance in young athletes with bicuspid aortic valve and mild aortic regurgitation. *Eur J Echocardiogr* **10**, 527-531.
- Stickland MK, Anderson WD, Haykowsky MJ, Welsh RC, Petersen SR & Jones RL. (2004). Effects of prolonged exercise to exhaustion on left-ventricular function and pulmonary gas exchange. *Respir Physiol Neurobiol* **142**, 197-209.
- Stoylen A, Heimdal A, Bjornstad K, Torp HG & Skjaerpe T. (1999). Strain Rate Imaging by Ultrasound in the Diagnosis of Regional Dysfunction of the Left Ventricle.

- Echocardiography* **16**, 321-329.
- Stuempfle KJ, Nindl BC & Kamimori GH. Stress hormone responses to an ultraendurance race in the cold. *Wilderness Environ Med* **21**, 22-27.
- Takeuchi M, Borden WB, Nakai H, Nishikage T, Kokumai M, Nagakura T, Otani S & Lang RM. (2007). Reduced and delayed untwisting of the left ventricle in patients with hypertension and left ventricular hypertrophy: a study using two-dimensional speckle tracking imaging. *Eur Heart J* **28**, 2756-2762.
- Takeuchi M, Nakai H, Kokumai M, Nishikage T, Otani S & Lang RM. (2006). Age-related changes in left ventricular twist assessed by two-dimensional speckle-tracking imaging. *J Am Soc Echocardiogr* **19**, 1077-1084.
- Tanguy S, Morel S, Berthonneche C, Toufektsian MC, de Lorgeril M, Ducros V, Tosaki A, de Leiris J & Boucher F. (2004). Preischemic selenium status as a major determinant of myocardial infarct size in vivo in rats. *Antioxid Redox Signal* **6**, 792-796.
- Thomas JD & Popovic ZB. (2006). Assessment of left ventricular function by cardiac ultrasound. *J Am Coll Cardiol* **48**, 2012-2025.
- Torrent-Guasp F, Buckberg GD, Clemente C, Cox JL, Coghlan HC & Gharib M. (2001). The structure and function of the helical heart and its buttress wrapping. I. The normal macroscopic structure of the heart. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* **13**, 301-319.
- Tulloh L, Robinson D, Patel A, Ware A, Prendergast C, Sullivan D & Pressley L. (2006). Raised troponin T and echocardiographic abnormalities after prolonged strenuous exercise--the Australian Ironman Triathlon. *Br J Sports Med* **40**, 605-609.
- Urheim S, Edvardsen T, Torp H, Angelsen B & Smiseth OA. (2000). Myocardial strain by Doppler echocardiography. Validation of a new method to quantify regional myocardial function. *Circulation* **102**, 1158-1164.
- van Dalen BM, Vletter WB, Soliman OI, ten Cate FJ & Geleijnse ML. (2008). Importance of transducer position in the assessment of apical rotation by speckle tracking echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* **21**, 895-898.
- Vanoverschelde JL, Younis LT, Melin JA, Vanbutsele R, Leclercq B, Robert AR, Cosyns JR & Detry JM. (1991). Prolonged exercise induces left ventricular dysfunction in healthy subjects. *J Appl Physiol* **70**, 1356-1363.
- Vatner DE, Vatner SF, Nejima J, Uemura N, Susanni EE, Hintze TH & Homcy CJ. (1989). Chronic norepinephrine elicits desensitization by uncoupling the beta-receptor. *J Clin Invest* **84**, 1741-1748.
- Venditti P, Masullo P, Di Meo S & Agnisola C. (2001). Effects of prolonged aerobic exercise on myocardial responses to ischaemia-reperfusion in the rat. *Exp Physiol* **86**, 341-348.

- Venditti P, Piro MC, Artiaco G & Di Meo S. (1996). Effect of exercise on tissue anti-oxidant capacity and heart electrical properties in male and female rats. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **74**, 322-329.
- Waldman LK, Nosan D, Villarreal F & Covell JW. (1988). Relation between transmural deformation and local myofiber direction in canine left ventricle. *Circ Res* **63**, 550-562.
- Wang J, Khoury DS, Thohan V, Torre-Amione G & Nagueh SF. (2007). Global diastolic strain rate for the assessment of left ventricular relaxation and filling pressures. *Circulation* **115**, 1376-1383.
- Warburton DE, Nicol CW & Bredin SS. (2006). Health benefits of physical activity: the evidence. *CMAJ* **174**, 801-809.
- Weiss JL, Frederiksen JW & Weisfeldt ML. (1976). Hemodynamic determinants of the time-course of fall in canine left ventricular pressure. *J Clin Invest* **58**, 751-760.
- Welsh RC, Warburton DE, Humen DP, Taylor DA, McGavock J & Haykowsky MJ. (2005). Prolonged strenuous exercise alters the cardiovascular response to dobutamine stimulation in male athletes. *J Physiol* **569**, 325-330.
- Werle EO, Strobel G & Weicker H. (1990). Decrease in rat cardiac beta 1- and beta 2-adrenoceptors by training and endurance exercise. *Life Sci* **46**, 9-17.
- Whyte G, George K, Shave R, Dawson E, Stephenson C, Edwards B, Gaze D, Oxborough D, Forster J & Simson R. (2005). Impact of marathon running on cardiac structure and function in recreational runners. *Clin Sci (Lond)* **108**, 73-80.
- Whyte GP, George K, Sharma S, Lumley S, Gates P, Prasad K & McKenna WJ. (2000). Cardiac fatigue following prolonged endurance exercise of differing distances. *Med Sci Sports Exerc* **32**, 1067-1072.
- Wilson M, O'Hanlon R, Prasad S, Oxborough D, Godfrey R, Alpendurada F, Smith G, Wong J, Basavarajaiah S, Sharma S, Nevill A, Gaze D, George K & Whyte G. Biological markers of cardiac damage are not related to measures of cardiac systolic and diastolic function using cardiovascular magnetic resonance and echocardiography after an acute bout of prolonged endurance exercise. *Br J Sports Med*.
- Wonders KY, Hydock DS & Hayward R. (2007). Time-course of changes in cardiac function during recovery after acute exercise. *Appl Physiol Nutr Metab* **32**, 1164-1169.
- Wong ND, Gardin JM, Kurosaki T, Anton-Culver H, Sidney S, Roseman J & Gidding S. (1995). Echocardiographic left ventricular systolic function and volumes in young adults: distribution and factors influencing variability. *Am Heart J* **129**, 571-577.

- Yamazaki H, Onishi S, Sekihara T, Uemura Y, Iwane H, Shimomitsu K, Katsumura T & Ishii Y. (1990). [Left ventricular function after prolonged exercise]. *Kokyu To Junkan* **38**, 1241-1245.
- Yip G, Abraham T, Belohlavek M & Khandheria BK. (2003). Clinical applications of strain rate imaging. *J Am Soc Echocardiogr* **16**, 1334-1342.
- Yu CM, Sanderson JE, Marwick TH & Oh JK. (2007). Tissue Doppler imaging a new prognosticator for cardiovascular diseases. *J Am Coll Cardiol* **49**, 1903-1914.
- Zhou Z & Bers DM. (2002). Time course of action of antagonists of mitochondrial Ca uptake in intact ventricular myocytes. *Pflugers Arch* **445**, 132-138.
- Zima AV, Copello JA & Blatter LA. (2004). Effects of cytosolic NADH/NAD(+) levels on sarcoplasmic reticulum Ca(2+) release in permeabilized rat ventricular myocytes. *J Physiol* **555**, 727-741.

## **Listes des figures et des tableaux**

心

## 1. Figures

Figure 1 : Planche anatomique du cœur illustrant les quatre cavités cardiaques.....	20
Figure 2 : Les différents éléments constitutifs du tissu myocardique. ....	22
Figure 3 : Illustration de l'organisation en spirale des fibres myocardiques.....	23
Figure 4 : Orientation des fibres et structure du tissu des régions sous-épicardiques et sous-endocardiques du VG d'un cœur de cochon adulte.....	24
Figure 5 : Les différentes phases du cycle cardiaque au cours d'une révolution. ....	26
Figure 6 : Évaluation de l'onde S' par DTI au niveau de la paroi septale du VG.....	30
Figure 7 : Évaluations de l'onde E' et de l'onde A' par DTI au niveau des parois septale et latérale du VG.....	33
Figure 8 : Les trois déformations normales du VG.....	49
Figure 9 : Les contraintes de cisaillement myocardiques.....	50
Figure 10 : Schématisation des moments de force au niveau des feuillets endocardique et épicardique.....	51
Figure 11 : Cinétiques des rotations apicales et basales ainsi que de la torsion du VG chez un sujet sain en condition de repos.....	52
Figure 12 : Représentation schématique du principe d'analyse des images échocardiographiques par STE.....	53



Figure 13 : Schématisation des 17 segments d'analyse pour l'évaluation régionalisée du myocarde et de la cavité ventriculaire gauche selon les recommandations de l'AHA. ....	55
Figure 14 : Représentation schématique des mouvements de rotation du VG pendant le cycle cardiaque. ....	57
Figure 15 : Schéma des différents événements démontrant l'importance de la torsion dans le remplissage du VG. ....	60
Figure 16 : Pics de vitesse de torsion / détorsion retardés après un triathlon distance « Ironman ». ....	65
Figure 17 : Illustration de l'ultrastructure du myocarde. ....	77
Figure 18 : Tissu myocardique de VG de rat vues au microscope électronique. ....	78
Figure 19 : Voie de signalisation $\beta$ -adrénergique cardiaque. ....	83
Figure 20 : Les effets délétères des ERO et EROA. ....	87
Figure 21 : Systèmes enzymatiques antioxydants principaux de l'organisme. ....	88
Figure 22 : Homéostasie calcique cardiaque. ....	92
Figure 23 : Schéma récapitulatif des mécanismes physiologiques majeurs potentiellement impliqués dans la fatigue cardiaque induite par un EPP. ....	95
Figure 24 : Schéma récapitulatif de l'ensemble des méthodologies utilisées au cours des différentes études de ce travail de doctorat. ....	101
Figure 25 : Exemple d'une étude morphologique TM du VG selon une coupe parasternale petit axe. ....	103

Figure 26 : Différentes coupes échocardiographiques utilisées au cours des bilans échocardiographiques.....	104
Figure 27 : Exemples d'évaluations DTI spectrale (à gauche) et <i>a posteriori</i> (à droite) des vitesses de déplacement longitudinal des parois myocardiques septale (à gauche) et latérale (à droite) au cours du temps. ....	105
Figure 28 : Exemple d'un flux transmitral pour l'analyse Doppler des ondes E et A.....	107
Figure 29 : Exemples de détection automatique de la région d'intérêt (« ROI », ici comprenant à la fois l'endocarde et l'épicarde) à partir de différentes coupes.....	108
Figure 30 : Exemple d'une déformation du VG au cours du temps grâce au STE (ici, déformation longitudinale). ....	110
Figure 31 : Design expérimental de l'étude n°1.....	112
Figure 32 : Ergocycle spécifique utilisé pour réaliser les évaluations échocardiographiques d'effort. ....	113
Figure 33 : Design expérimental de l'étude n°2.....	116
Figure 34 : Exemple de déformation longitudinale du VD évaluée au cours du temps grâce au STE.....	118
Figure 35 : Modèle animal de fatigue cardiaque utilisé dans l'étude n°3. ....	123
Figure 36 : Schéma du protocole d'évaluation de la fonction cardiaque <i>in vivo</i> .....	124
Figure 37 : Schéma du protocole d'évaluation de la fonction cardiaque <i>ex vivo</i> . ....	126

## **2. Tableaux**

Tableau 1 : Exemples de valeurs des paramètres de la fonction systolique mesurés par échocardiographie Doppler standard et tissulaire.....	30
Tableau 2 : Valeurs moyennes des paramètres de la fonction diastolique mesurés par échocardiographie Doppler standard et tissulaire.....	34
Tableau 3 : Effet d'un exercice de durée modérée sur la fonction ventriculaire gauche évaluée par échocardiographie Doppler standard et tissulaire.....	38
Tableau 4 : Effet d'un exercice de longue durée sur la fonction ventriculaire gauche évaluée par échocardiographie Doppler standard et tissulaire.....	40
Tableau 5 : Effet d'un exercice de très longue durée sur la fonction ventriculaire gauche évaluée par échocardiographie Doppler standard et tissulaire.....	42
Tableau 6 : Effet d'un exercice physique prolongé sur la fonction ventriculaire droite évaluée par échocardiographie Doppler standard et tissulaire.....	44
Tableau 7 : Indices de contractilité et de relaxation du VG dérivés des déformations, des rotations et de la torsion ainsi que des vitesses associées mesurés par STE.....	61
Tableau 8 : Effet d'un exercice physique prolongé sur la fonction cardiaque évaluée par STE.....	62
Tableau 9 : Synthèse des études de la fonction cardiaque réalisées chez l'animal après un EPP.....	73
Tableau 10 : Synthèse des études de l'ultrastructure cardiaque et des dommages cellulaires myocardiques menées chez l'animal après un EPP.....	80

Tableau 11 : Synthèse des études de la voie $\beta$ -adrénergique menées chez l'animal après un EPP.....	85
Tableau 12 : Synthèse des études du stress oxydant au niveau cardiaque menées chez l'animal après un EPP.....	90
Tableau 13 : Synthèse des études de l'homéostasie cardiaque menées chez l'animal après un EPP....	94
Tableau 14 : Caractéristiques morphologiques et sportives de la population de l'étude n°1.....	111
Tableau 15 : Caractéristiques morphologiques et sportives de la population de l'étude n°1.....	115
Tableau 16 : Caractéristiques, provenance et conditions d'hébergement des animaux. ....	121



**"Où que tu ailles, vas-y avec tout ton cœur". Confucius (孔子)**