

AUDREY MARCOUX

**RÔLE DE L'EXERCICE PHYSIQUE BREF ET INTENSE
DANS L'ACTIVATION DU SYSTÈME INFLAMMATOIRE
CHEZ LE SUJET ASYMPTOMATIQUE,
SANS ÉVIDENCE D'ISCHÉMIE MYOCARDIQUE**

Mémoire présenté
à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval
dans le cadre du programme de maîtrise en médecine expérimentale
pour l'obtention du grade de maître ès sciences (M. Sc.)

Département de médecine expérimentale
FACULTÉ DE MÉDECINE
UNIVERSITÉ LAVAL
QUÉBEC

DÉCEMBRE 2006

RÉSUMÉ

Certains marqueurs inflammatoires augmentent en concentration chez les sujets avec maladie coronarienne athérosclérotique. Le système inflammatoire pourrait également être modifié par un effort exhaustif prolongé (marathon) ou l'activité physique régulière. L'impact d'un exercice court et intense sur l'activation du système inflammatoire, chez les sujets sains d'âge mûr, sans évidence d'ischémie myocardique, n'est pas bien défini, tout comme l'évaluation de leur condition vasculaire. Chez ces sujets, une épreuve d'effort maximale sur tapis roulant a causé l'augmentation de ces marqueurs et médiateurs inflammatoires : protéine C-réactive (CRP), interleukine-6 (IL-6), interleukine-18 (IL-18) et myeloperoxydase (MPO). Pour la première fois, il est démontré que l'exercice bref et intense activerait significativement le système inflammatoire, chez des sujets matures asymptomatiques sans évidence d'ischémie à l'exercice. Immédiate et transitoire, cette réaction suggère une réponse physiologique de l'organisme. Dans un deuxième temps, des mesures échographiques vasculaires estimant la fonction endothéliale et l'épaisseur de l'intima-média carotidienne ont été prises, lesquelles contribueront aux connaissances portant sur la condition vasculaire et viennent compléter notre investigation sur le portrait inflammatoire du sujet sain d'âge mûr.

AVANT-PROPOS

J'adresse mes premiers remerciements au Dr Peter Bogaty, mon directeur de recherche. Sa générosité, sa disponibilité, son exigence, sa grande humanité, sa passion pour la recherche et le travail bien fait me marquent particulièrement. Il m'aura permis de vivre une expérience inoubliable dans le monde de la cardiologie, me laissant toute la latitude nécessaire pour mener à bien ce projet. Merci pour votre confiance et pour avoir su me superviser et me conseiller dans la rédaction de cet ouvrage. Sincères remerciements pour m'avoir financée à même vos fonds de recherche personnels. Merci à Luce Boyer la travaillante, infirmière de recherche d'une grande douceur, avec qui j'ai cheminé depuis 2 ans... Et à mon grand frère du monde scientifique, Martin Noël, le spécialiste de l'exercice et des échographies vasculaires, l'étudiant chercheur passionné, le conseiller, celui qui est déjà passé par là... Merci pour les belles opportunités offertes. Sache garder ton coeur d'enfant!

De plus, j'aimerais souligner le travail du Dr János Filep, médecin chercheur de l'hôpital Maisonneuve-Rosemont, à Montréal, pour son expertise et sa contribution au niveau des marqueurs inflammatoires. Mes remerciements à M. Serge Simard, biostatisticien, pour ses réponses et conseils et avoir grandement facilité mon contact avec les calculs statistiques. Merci à un collaborateur exceptionnel, M. Fernand Bertrand, biochimiste à l'hôpital Laval, pour sa disponibilité, son professionnalisme et sa gentillesse hors du commun.

Merci à ma mère, Gaétane, et à mon père, Luc, des parents et êtres exceptionnels qui m'ont toujours supportée et encouragée dans mes décisions. Vous avez contribué à faire qu'aujourd'hui, mon étoile brille plus que jamais... À ma petite soeur et grande amie, Cynthia, je veux dire qu'il est possible de trouver sa voie. Finalement merci à l'amour de ma vie, Dave, mon complice, mon phare et repère, qui fut et demeure présent, inconditionnellement, même dans les moments les plus difficiles...

TABLE DES MATIÈRES

| | |
|---|------|
| RÉSUMÉ | ii |
| AVANT-PROPOS | iii |
| TABLE DES MATIÈRES | iv |
| LISTE DES TABLEAUX | vii |
| LISTE DES FIGURES | viii |
| INTRODUCTION | 1 |
| CHAPITRE 1: CONTEXTE THÉORIQUE | 4 |
| Physiopathologie cardiovasculaire | 5 |
| 1.1 Structure de la paroi vasculaire | 5 |
| 1.2 Endothélium vasculaire | 5 |
| 1.3 Dysfonction endothéliale | 6 |
| 1.4 Athérogénèse | 7 |
| 1.5 Ischémie myocardique; signes et symptômes associés..... | 10 |
| 1.5.1 Angine chronique stable | 10 |
| 1.5.2 Angine instable | 11 |
| 1.5.3 Infarctus du myocarde | 12 |
| Activité inflammatoire | 13 |
| 1.6 Inflammation et réponse de la phase aiguë | 13 |
| 1.6.1 Aspects positifs de l'inflammation | 13 |
| 1.6.2 Aspects négatifs de l'inflammation | 14 |
| 1.7 Principaux acteurs de la cascade inflammatoire | 14 |
| 1.7.1 Fonctions des cytokines | 14 |
| 1.7.2 Protéines de la phase aiguë | 15 |
| 1.8 Marqueurs inflammatoires et MCAS | 16 |
| 1.8.1 Protéine C-Réactive: présentation et lien avec la MCAS | 16 |
| 1.8.2 Interleukine-6: présentation et lien avec la MCAS | 18 |
| 1.8.3 Interleukine-18: présentation et lien avec la MCAS | 19 |
| 1.8.4 Myeloperoxidase: présentation et lien avec la MCAS | 20 |
| Exercice physique et système inflammatoire | 22 |
| 1.9 Effet anti-inflammatoire de l'activité physique régulière | 22 |
| 1.10 Réponses inflammatoires aiguës induites par l'exercice physique soutenu..... | 23 |
| 1.10.1 Protéine C-Réactive : variations avec l'exercice | 24 |
| 1.10.2 Interleukine-6: variations avec l'exercice | 25 |
| 1.10.3 Interleukine-18: variations avec l'exercice | 27 |
| 1.10.4 Myeloperoxidase: variations avec l'exercice | 27 |

| | |
|--|----|
| Marqueurs de dommages musculo-squelettiques activés par l'exercice | 29 |
| <i>1.11 Myoglobine</i> | 29 |
| <i>1.12 Créatine kinase</i> | 29 |
| <i>1.13 Dommages musculo-squelettiques et travail excentrique</i> | 31 |
| <i>1.14 Dommages musculo-squelettiques et travail concentrique</i> | 32 |
| Évaluation vasculaire par échographie chez le sujet sain | 33 |
| <i>1.15 Fonction endothéliale de l'artère brachiale</i> | 33 |
| <i>1.15.1 Fonction endothéliale induite par hyperémie réactive</i> | 34 |
| <i>1.15.2 Vasodilatation induite par nitroglycérine</i> | 34 |
| <i>1.15.3 Fonction endothéliale et MCAS</i> | 35 |
| <i>1.16 Épaisseur de l'intima-média carotidienne</i> | 36 |
| <i>1.16.1 La technique d'imagerie</i> | 36 |
| <i>1.16.2 Intima-média carotidienne et MCAS</i> | 38 |
| <i>1.17 Conclusions sur l'imagerie fonctionnelle et anatomique</i> | 39 |
| | |
| CHAPITRE 2: ARTICLE SCIENTIFIQUE | 40 |
| Résumé en français | 41 |
| | |
| EFFECT OF BRIEF AND INTENSE EXERCISE ON MARKERS AND MEDIATORS OF INFLAMMATION IN ASYMPTOMATIC MEN WITHOUT EVIDENCE OF MYOCARDIAL ISCHEMIA | 42 |
| Abstract | 43 |
| Introduction | 44 |
| Methods | 44 |
| Results | 47 |
| Discussion | 48 |
| Study limitations | 50 |
| Conclusion | 50 |
| Figures legend | 53 |
| References | 63 |

| | |
|--|----|
| CHAPITRE 3: MESURES ÉCHOGRAPHIQUES VASCULAIRES | 64 |
| Évaluation de la fonction endothéliale | 65 |
| 3.1 Méthodologies des mesures de fonction endothéliale | 65 |
| 3.2 Résultats des mesures de fonction endothéliale | 66 |
| Évaluation de l'épaisseur de l'I-M carotidienne | 66 |
| 3.3 Méthodologies des mesures de l'épaisseur de l'I-M carotidienne par ultrasonographie en mode-B | 66 |
| 3.4 Résultats de l'épaisseur de l'I-M carotidienne | 67 |
| CHAPITRE 4: DISCUSSION ET CONCLUSION | 68 |
| Discussion générale | 69 |
| 4.1 Population à l'étude | 69 |
| 4.2 Protocole d'exercice | 69 |
| 4.3 Critères d'arrêt de l'exercice | 70 |
| Rôle de l'exercice dans l'activation du système inflammatoire | 70 |
| 4.4 Discussion sur l'augmentation de la CRP et IL-6 | 70 |
| 4.5 Discussion sur l'augmentation de l'IL-18 | 73 |
| 4.6 Discussion sur l'augmentation de la MPO | 74 |
| Relation entre les valeurs et les augmentations des marqueurs inflammatoires | 74 |
| Les mesures échographiques vasculaires | 75 |
| 4.7 Interprétation des résultats des mesures de fonction endothéliale | 75 |
| 4.8 Discussion sur les mesures de la fonction endothéliale | 77 |
| 4.8.1 Fiabilité de la technique d'analyse de la fonction endothéliale | 78 |
| 4.9 Interprétation des mesures de l'épaisseur de l'intima-média carotidienne..... | 79 |
| 4.10 Discussion sur les mesures de l'épaisseur de l'intima-média carotidienne | 79 |
| 4.11 Fonction endothéliale et I-M carotidienne en relation avec l'âge..... | 80 |
| 4.12 Fonction endothéliale en corrélation avec l'I-M carotidienne..... | 80 |
| Limitations de cette étude | 81 |
| Retombées de cette étude | 82 |
| Sommaire | 83 |
| Conclusion | 84 |
| Liste des références | 86 |

LISTE DES TABLEAUX

| | | |
|-----------|---|----|
| Tableau 1 | Clinical characteristics of the study group..... | 51 |
| Tableau 2 | Values of CRP, IL-6, IL-18 and MPO at all time points..... | 52 |
| Tableau 3 | Mesures en mm ayant permis de calculer les % de vasodilatation..... | 66 |

LISTE DES FIGURES

| | | |
|----------|--|---------|
| Figure 1 | Fluctuations de la créatine kinase (CK), la myoglobine et la heart type fatty acid binding protein (H-FABP) à la suite d'une course de 20 minutes en déclinaison, à 70 % du VO ₂ max..... | 31 |
| Figure 2 | Mesures échographiques de l'athérosclérose carotidienne par ultrasons en mode-B..... | 37 |
| Figure 3 | Individual CRP, IL-6, IL-18 and MPO values before and immediately after maximal exercise, in older healthy males..... | 55 à 58 |
| Figure 4 | Impact of maximal exercise on CRP, IL-6, IL-18 and MPO serum concentrations in older healthy males..... | 59 à 62 |

LISTE DES ABRÉVIATIONS

| | |
|---------------------|--|
| ADP | Adénosine-diphosphate |
| ATP | Adénosine-triphosphate |
| AVC | Accident vasculaire cérébral |
| bpm | Battements par minute |
| CK | Créatine kinase |
| CML | Cellules musculaires lisses |
| CRP | Protéine C-Réactive |
| ECG | Électrocardiogramme |
| EDRF | Endothelium derived relaxing factor |
| HOCl | Acide hypochloreux |
| ICAM | Intercellular adhesion molecule |
| IL | Interleukine |
| I-M | Intima-média |
| INF- γ | Interféron- γ |
| LDL | Lipoprotéines de basse densité |
| MCAS | Maladie coronarienne athérosclérotique |
| METs | Équivalents métaboliques (dépense énergétique) |
| mmHg | Millimètre de mercure |
| MPO | Myeloperoxidase |
| NO | Oxyde nitrique |
| oxLDL | LDL oxydés |
| PPMC | Pavillon de Prévention des Maladies Cardiaques |
| SAA | Protéine sérum amyloïde A |
| SCA | Syndrome coronarien aigu |
| TGF- β | Transforming growth factor- β |
| TNF- α | Tumor-necrosis factor- α |
| Tn | Troponine |
| TNT | Nitroglycérine |
| VCAM | Vascular cell adhesion molecule |
| VO ₂ max | Consommation d'oxygène maximale |

INTRODUCTION

Jusqu'au 20^e siècle, les manifestations cardiaques de nature ischémique étaient relativement rares [1]. Puis, c'est vers 1910 que la maladie cardiaque est devenue la cause majeure de décès aux États-Unis, adoptant des allures pandémiques [2]. Pendant la première moitié du siècle, le nombre de décès de nature cardiovasculaire augmenta de façon drastique dans la population en général, sans distinction pour l'âge, le sexe ou la race [2]. Vers 1950, la maladie cardiovasculaire était tenue responsable de plus de la moitié des décès, et ce dans tout le monde industrialisé, atteignant un sommet vers les années soixante [1, 2]. De nos jours, on estime qu'environ la moitié de tous les décès résulte de l'athérosclérose [1] et les causes pouvant mener à l'évolution de la maladie sont diverses. L'étude de Framingham [3], parue en 1961, a largement contribué à l'élaboration du concept des facteurs de risque athérosclérotique cardiovasculaire. L'investigation, continue et unique en son genre, a présenté l'hypertension artérielle et l'hypercholestérolémie comme les facteurs majoritairement responsables de l'incidence de la maladie vasculaire athérosclérotique. Ce n'est qu'un peu plus tard que le tabagisme fut reconnu comme troisième facteur majeur de risque cardiaque [3, 4]. Aujourd'hui, nous savons que la maladie athérosclérotique est souvent de nature multifactorielle, pouvant également être entraînée par le diabète, le syndrome d'insulino-résistance, l'obésité, la sédentarité, une diète trop grasse ou des facteurs non-modifiables comme l'âge ou l'hérédité [1, 4].

La maladie coronarienne athérosclérotique (MCAS), maladie inflammatoire, constitue un phénomène bien plus complexe que la simple accumulation de lipides au niveau vasculaire [5]. La dysfonction endothéliale, étape cruciale dans le développement des lésions athérosclérotiques [6-8], permet l'activation du système inflammatoire à ce niveau. En effet, par la réponse de différents médiateurs inflammatoires et immunitaires, l'inflammation peut jouer un rôle déterminant dans le développement de la lésion athérosclérotique et la sévérité de la maladie cardiovasculaire [5, 9, 10]. Bien que les causes de l'activation inflammatoire soient diverses [11, 12], les dernières années de recherche ont démontré que l'exercice physique peut également affecter le système immunitaire, modifiant significativement la distribution et la fonction de plusieurs paramètres cellulaires et humoraux [13-16].

Cette investigation chez le sujet sain avait comme objectif initial de constituer un groupe contrôle pour une étude du Centre de recherche de l'hôpital Laval (Bogaty et al. manuscrit en préparation). L'étude SUMMIT (*Effects of metabolic substrate manipulation on ischemic threshold in subjects with effort angina*), chez le patient d'âge mûr avec angine stable à l'effort, s'est aussi intéressée à la réponse des marqueurs inflammatoires suivants: protéine C-réactive (CRP), interleukine-6 (IL-6), interleukine-18 (IL-18) et myeloperoxydase (MPO), à la suite d'un exercice physique maximal sur tapis roulant, suivant le protocole de Bruce modifié. L'exercice régulier d'intensité modérée [17, 18], comme la MCAS [5], peuvent modifier les concentrations sériques des marqueurs inflammatoires. Dans quelle mesure un exercice bref et intense peut-il influencer la réponse inflammatoire ? L'IL-18 et la MPO, moins bien connus que la CRP et l'IL-6, pourraient-ils être associés à la MCAS reflétée par de l'ischémie myocardique à l'électrocardiogramme (ECG) à l'effort ? Afin de nous éclairer sur ces interrogations, il y avait nécessité de répéter le protocole chez les sujets asymptomatiques, sans évidence d'ischémie myocardique à l'effort, donc de toute apparence, en bonne santé.

Profitant de cette cohorte de sujets sains, nous avons saisi l'occasion d'étudier la condition vasculaire de cette population. La seconde partie de cet ouvrage, portant sur la fonction endothéliale de l'artère brachiale et l'épaisseur des parois intima-média carotidiennes, a donc servi de complément à l'élaboration d'un portrait vasculaire chez les sujets d'âge mûr. Une revue de la littérature a permis de dénoter certaines disparités dans les résultats des mesures échographiques vasculaires, mais surtout la rareté des investigations de cette nature impliquant des sujets âgés en bonne santé. Les résultats obtenus chez cette population sous-évaluée contribueront à l'établissement de valeurs de référence, permettant d'évaluer les malades.

Le premier chapitre de ce mémoire traite du contexte théorique et expérimental du projet d'étude. Bien que celui-ci couvre un très large éventail d'informations, la théorie à l'étude est ici exposée en cinq parties, révisant d'abord la physiopathologie cardiovasculaire et ses grandes étapes. Ensuite, l'activité inflammatoire et la réponse de la phase aigue seront les thèmes abordés. Dans cette section, les quatre marqueurs d'intérêt de l'étude seront

présentés, en lien avec la maladie coronarienne. Troisièmement, il y aura discussion sur l'exercice physique, en lien avec l'inflammation et les marqueurs choisis. Puis, viendra la présentation de la myoglobine et de la créatine kinase (ou CK) en relation avec l'exercice. Ces protéines, connues comme marqueurs de dommages musculaires, ont été suspectées pour expliquer la réponse inflammatoire observée. Finalement, l'évaluation vasculaire par échographie chez le sujet sain permettra de récolter des valeurs utiles afin de mieux définir le portrait du sujet dit normal. Le second chapitre du travail présente les résultats de l'étude sous forme d'article qui sera soumis pour publication scientifique. Le troisième chapitre présentera la méthodologie et les résultats des mesures échographiques vasculaires. Finalement, le chapitre quatre propose une discussion générale, incluant les limitations, les retombées, ainsi que la conclusion de l'étude.

CHAPITRE 1
CONTEXTE THÉORIQUE

Physiopathologie cardiovasculaire

1.1 Structure de la paroi vasculaire

La circulation sanguine est possible, en grande partie, grâce aux artères et artérioles, vaisseaux qui acheminent le sang oxygéné vers les cellules de l'organisme. Le sang, utilisé par les divers tissus et organes du corps humain, est ramené jusqu'à la pompe cardiaque et le système pulmonaire par les veines et veinules, pour être réoxygéné et assurer le maintien des fonctions vitales.

Les vaisseaux sanguins sont composés de trois tuniques. La tunique interne, l'intima, est constituée de l'endothélium, d'une membrane basale, ainsi que d'une limitante élastique interne [19]. La média, tunique centrale du vaisseau sanguin, est la plus épaisse, car composée de fibres élastiques et de cellules musculaires lisses (CML). Cette composante élastique confère sa souplesse au vaisseau et lui permet d'adapter sa circonférence aux changements hémodynamiques [19]. Finalement, l'adventice, faite de fibres élastiques et de fibres de collagène, constitue l'enveloppe externe du vaisseau. Une limitante élastique, externe cette fois-ci, sépare l'adventice de la média [19].

1.2 Endothélium vasculaire

L'endothélium vasculaire est composé d'une unique couche de cellules endothéliales, tapissant l'intérieur des vaisseaux sanguins, des valves cardiaques et de plusieurs cavités corporelles [20]. Les cellules endothéliales interagissent directement avec le flot sanguin, séparant la paroi vasculaire et les constituants sanguins et agissant en tant que barrière passive pour l'intégrité des vaisseaux [8, 21, 22]. En plus d'interagir avec le sang, l'endothélium assure une certaine homéostasie vasculaire et occupe un rôle de premier plan dans la modulation du tonus et du calibre vasculaire [8, 21].

Mis à part la régulation du débit sanguin en réponse à différents stimuli (comme une vasodilatation induite lors d'un exercice physique), l'endothélium vasculaire relâche des substances vasoactives [7, 20-23], anticoagulantes, procoagulantes et fibrinolytiques [1]. Certaines substances relâchées ont des propriétés vasoconstrictrices (dont l'endothéline), d'autres des propriétés vasodilatatrices, comme la prostacycline et l'oxyde nitrique (NO)

[6]. Ce dernier, originalement identifié comme l'*endothelium derived relaxing factor* (EDRF) est le facteur relaxant clé dérivant de l'endothélium [1, 20]. En plus de son effet vasodilatateur, le NO protège les vaisseaux des agressions, de l'inflammation et des thromboses, puisqu'il inhibe l'adhésion leucocytaire à l'endothélium, empêche la prolifération des CML et limite l'agrégation plaquettaire [1, 6, 7, 21, 22, 24]. De plus, le NO a pour effet d'empêcher l'oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL), l'adhésion plaquettaire et monocyttaire et la synthèse des cytokines pro-inflammatoires [6].

1.3 Dysfonction endothéliale

Une dysfonction endothéliale implique que certaines cellules composant l'endothélium ont pu être endommagées par une usure chronique (hypertension artérielle), une lésion traumatique, inflammatoire, métabolique (diabète, hypercholestérolémie), toxique (tabagisme) ou infectieuse, le phénomène se produisant parfois dès l'enfance [1]. La dysfonction endothéliale se décrit comme une diminution de la production ou de la disponibilité de substances vasodilatatrices, en particulier du NO, ou un déséquilibre entre les facteurs relaxants (vasodilatateurs aux propriétés anti-thrombotiques) et les facteurs contractiles (vasoconstricteurs aux propriétés pro-athérogéniques) produits par l'endothélium [8, 20, 23, 25, 26]. Le vaisseau dont la fonction vasodilatatrice est atteinte est donc plus rigide et moins apte à réagir aux différents stress que subit l'organisme, comme lors d'un exercice de type aérobie. Dans ce cas, la demande de sang artériel aux muscles est plus importante et exige une augmentation de la fréquence cardiaque et de la tension artérielle systolique. La vasodilatation diminuée peut également causer une augmentation de la tension artérielle au-delà des valeurs souhaitables et sécuritaires lors d'un exercice physique.

Plusieurs facteurs peuvent réduire la bio-disponibilité des vasodilatateurs. Le tabagisme, l'âge, l'hypercholestérolémie, l'hypertension artérielle, l'hyperglycémie, le diabète et une histoire familiale de maladie athérosclérotique prématurée, pour n'en nommer que quelques-uns, compromettent la libération de NO par l'endothélium [1, 6, 25]. Un état d'activation endothéliale est alors engendré et prédispose les vaisseaux sanguins à la vasoconstriction par l'intermédiaire de médiateurs comme la sérotonine, la thromboxane A₂

et l'endothéline [1]. La dysfonction endothéliale peut augmenter la production de cytokines et l'expression des molécules d'adhésion cellulaire par l'endothélium [21]. Cette dysfonction peut jouer un rôle fondamental dans le développement de l'athérosclérose, la progression de la plaque athérosclérotique [1, 6-8, 23] et la pathophysiologie des syndromes coronariens aigus (SCA) (angine instable et infarctus du myocarde) [8]. En effet, une dysfonction endothéliale peut mener à la déstabilisation et à l'érosion de la plaque à cause de son potentiel anti-inflammatoire et antioxydant réduit [23]. Finalement, deux études majeures, parues simultanément, ont décrit une relation entre la dysfonction endothéliale coronarienne et l'incidence d'événements cardiovasculaires, et ce même en l'absence d'obstruction des artères coronariennes [27, 28].

1.4 Athérogénèse

En présence de facteurs de risque comme ceux précédemment discutés, les lésions athérosclérotiques, ou athéromes, causent un épaississement asymétrique de l'intima artérielle [10, 29]. Plus particulièrement, les plaques athéromateuses sont constituées d'une prolifération de CML provenant de la média avec un certain nombre de macrophages et de lymphocytes, de tissu conjonctif formé par les cellules, incluant du collagène, des fibres élastiques, des protéoglycans et des lipides surtout sous forme d'esters et de cholestérol libre intra et extracellulaire [1, 4]. Ces accumulations de lipides et de débris fibreux se forment dans les parois des artères de tailles moyennes et plus larges, des artères élastiques et musculaires principalement [5, 29, 30]. Les lésions peuvent mener à l'ischémie myocardique (causant l'angine de poitrine ou l'ischémie silencieuse [1]), cérébrale et/ou périphérique, pouvant causer la mort cellulaire des territoires affectés par la diminution du flot sanguin [5], dont la nécrose myocardique [4].

L'endothélium intact n'initie habituellement pas de liaison avec les leucocytes circulants [30-32]. Cependant, l'altération de la fonction endothéliale peut engendrer l'adhésion leucocytaire et leur invasion dans l'espace sous-endothélial, par l'entremise des molécules d'adhésion produites [29, 30, 32]. Parmi les leucocytes impliqués, on retrouve surtout des monocytes (recrutés vers les tissus par des signaux inflammatoires [33]) et des lymphocytes T (issus de la moelle osseuse visant à défendre l'organisme en reconnaissant et en éliminant

les antigènes [19]) [5, 10, 29-31]. Certaines molécules d'adhésion comme la *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1) et la *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1) sont produites par les cellules endothéliales et se lient précisément avec les leucocytes retrouvées dans les athéromes humains [10, 32]. De plus, dans les lésions sujettes à la formation de lésions athéromateuses, les cellules endothéliales produisent les VCAM-1 en réponse à la présence de cholestérol, principalement les LDL [30]. Ces particules de mauvais cholestérol, qui s'accumulent au niveau sous-endothélial, peuvent être oxydées (oxLDL) par les cellules endothéliales [29].

Dans les lésions pré-athéroscléreuses, plusieurs monocytes se convertissent en macrophages, lesquels deviennent des cellules spumeuses une fois chargés de gouttelettes de cholestérol (les oxLDL peuvent être captées par des récepteurs spécialisés à la surface des macrophages et des CML [29, 33]) [5, 10, 29, 33-35]. Plusieurs facteurs de croissance et des cytokines sont alors relâchés par les leucocytes activés, ce qui peut résulter en une migration et une prolifération des CML vers l'intima [29, 35], ou une augmentation de l'activité d'agrégation plaquettaire [35]. L'accumulation, la prolifération et l'agrégation des CML et des plaquettes peuvent conduire à un épaissement de la paroi et permettront à l'athérosclérose de se développer [35]. Ce phénomène s'explique par le fait que les cytokines relâchées dans la circulation ont le potentiel d'activer l'endothélium, en modifiant ses propriétés antiadhésives et anticoagulantes [36].

L'intima endommagée est le siège des stries lipidiques, les premières lésions annonçant l'athérosclérose [5, 29, 30, 35, 37]. Celles-ci entraînent l'accumulation continue de cellules spumeuses dans l'espace sous-intimal et l'évidence d'une activité inflammatoire locale [37]. Les macrophages, les cellules endothéliales et les CML se trouvant dans l'athérome sécrètent certains facteurs de croissances et des cytokines [10], dont l'interleukine-1 (IL-1) ou la *tumor-necrosis factor- α* (TNF- α) [30, 32, 33, 38], ces dernières produisant l'IL-6 [32, 39]. Des stries lipidiques peuvent se trouver chez les jeunes personnes. Elles peuvent ne jamais causer de symptômes, progresser en athérome ou disparaître, éventuellement [10]. La migration et la prolifération des cellules spumeuses, qui deviennent entremêlées avec la lésion inflammatoire, peuvent causer un épaissement de la paroi artérielle, laquelle

s'ajuste par une dilatation et permet au diamètre vasculaire de demeurer intact. Ce phénomène est appelé remodelage artériel [5]. Cependant, une condition inflammatoire persistante résulte en une quantité accrue de macrophages et de lymphocytes au sein de la lésion [5]. L'activité de ces cellules mène au relâchement d'enzymes hydrolytiques, de cytokines, de chimiokines et de facteurs de croissance, menant éventuellement à une nécrose focale [5]. Avec le temps, la lésion s'élargit et se reconstruit, jusqu'à la formation d'une couche fibreuse, recouvrant la corps lipidique ainsi que le tissu nécrosé, c'est la lésion compliquée [5, 29]. Le tissu fibreux est surtout composé de collagène [40], mais aussi d'élastine, de fibrine et de CML [35]. Dès lors, l'artère ne plus compenser par la dilatation, la lésion devient alors une sténose, elle envahit la lumière artérielle et perturbe la circulation sanguine [5, 30].

Le site anatomique ainsi que le contenu de la lésion peuvent fragiliser celle-ci. La sténose située à une bifurcation ou à un embranchement et riche en macrophages et pauvre en tissu fibreux est plus susceptible d'être altérée par les forces de pression et la turbulence [29]. Les plaques les plus fragiles sont celles constituées d'un mince revêtement fibreux et d'un contenu lipidique élevé [40]. Les tensions hémodynamiques peuvent causer des fentes, des fissures et même des déchirures aux parties les plus minces de la couche fibreuse [29]. De plus, les cytokines pro-inflammatoires peuvent réduire la synthèse de matrice fibreuse et de surcroît augmenter sa dégradation, formant la plaque dite vulnérable et favorisant sa rupture [36]. La rupture de l'endothélium, aussi appelée ulcération, cause un contact direct entre le sang et les substances pro-coagulantes de la plaque. Les plaquettes, alors mobilisées vers le sous-endothélium, libèrent des substances vasoconstrictrices [35]. La rupture d'une plaque fibreuse augmente le risque de thrombose [35], le contenu de la plaque étant révélé au reste de la circulation sanguine. Le sang infiltrant la lésion peut également causer une hémorragie, laquelle augmente considérablement le volume de la plaque et peut aussi mener à la thrombose. L'occlusion thrombotique de l'artère coronaire au site de cette plaque rompue ou érodée, si elle est aiguë et soutenue, a pour conséquence un infarctus du myocarde [35]. Le thrombus, s'il se détache de la paroi artérielle, peut migrer distalement, devenant une embolie [35]. En résumé, les manifestations cliniques de l'athérome sont

surtout l'ischémie myocardique, due à l'athérosclérose des artères coronaires, l'insuffisance vasculaire des membres inférieurs et des accidents vasculaires cérébraux (AVC) [35].

1.5 Ischémie myocardique; signes et symptômes associés

Lorsqu'il y a rétrécissement du calibre des artères à cause de la MCAS, la livraison appropriée du sang oxygéné se trouve compromise. L'ischémie myocardique peut se définir comme un déséquilibre entre le besoin (demande) et la livraison (fourniture) d'oxygène au muscle cardiaque [1, 41]. Généralement, des sténoses de plus de 50 % de diamètre ou obstruant plus de 75 % de l'aire abaissent la réserve coronarienne et placent le myocarde en situation d'ischémie lors d'une augmentation de la demande du muscle cardiaque en oxygène [1]. Le travail cardiaque, qui dépend essentiellement de la fréquence cardiaque, la tension artérielle et la contractilité myocardique, détermine le besoin en oxygène du cœur. Un besoin dépassant la capacité de fourniture peut résulter en ischémie myocardique, donc en une souffrance (déficit en sang oxygéné) d'une ou plus d'une région du myocarde. Le même phénomène se produit si la fourniture est insuffisante par rapport à un besoin (travail cardiaque) même minime [1]. Tout est question d'équilibre.

1.5.1 Angine chronique stable

L'angine chronique stable est le symptôme classique associé au rétrécissement graduel (non aigu) des artères coronariennes, donc à une perfusion coronarienne inadéquate du myocarde [42]. L'augmentation du besoin en oxygène myocardique (lors d'un effort physique plus important ou au ressenti d'une émotion plus forte, par exemple) place le muscle cardiaque dans un état ischémique [41, 42] normalement de courte durée (quelques minutes) et apparemment sans conséquence durable [1]. En effet, l'angine stable, ou angine d'effort, peut perturber la fonction myocardique transitoirement, mais ne cause pas de nécrose. La douleur angineuse est souvent décrite comme constrictive, suffocante ou écrasante. Certaines personnes rapportent simplement un inconfort ou une dyspnée plus marquée. La douleur ressentie est habituellement prévisible à l'effort et ressentie au niveau rétrosternal, mais peut irradier sur la face cubitale du bras gauche, aux deux bras, au cou, aux mâchoires, à la gorge ou à l'épigastre [1]. La complète réversibilité d'une douleur angineuse est possible avec le repos ou avec la prise de nitroglycérine sublinguale [1, 4, 41,

42]. Les crises d'angine chronique stable sont répétitives et souvent étalées sur des périodes allant jusqu'à plusieurs années [42], le niveau d'activité physique menant au seuil angineux étant relativement constant pour une même personne [1]. Chez une personne souffrant d'angine stable, l'ECG, dans le cas où il est anormal, indiquera le plus souvent des anomalies du segment ST (s'abaisse lors de l'ischémie myocardique) ou des modifications de l'onde T (indiquant une anomalie de la repolarisation ventriculaire) [1, 19].

1.5.2 Angine instable

Les SCA englobent premièrement l'infarctus du myocarde, présenté initialement (au niveau de l'ECG) par l'élévation (STEMI) ou la non-élévation (NSTEMI) du segment ST de l'ECG. L'infarctus complété est alors classifié en tant qu'infarctus du myocarde avec ou sans onde Q au niveau de l'ECG [1, 43]). La présence d'onde Q signe généralement un infarctus plus important, classiquement (bien que ça ne soit pas toujours le cas) atteignant toute l'épaisseur du myocarde (infarctus aussi dit transmural) [4]. Les SCA comprennent aussi l'angine dite instable [1, 4]. Cette dernière peut se définir comme une angine *de novo* ou encore comme le résultat d'un changement brusque et significatif de l'état d'angine stable [1]. Elle est ressentie au repos ou à l'effort minime, est de durée variable mais peut persister jusqu'à une vingtaine de minutes [1]. Elle est plus sévère et définie comme une douleur franche et relativement nouvelle [1, 41]. De plus, l'angine de type instable est progressive en sévérité (douleur crescendo), c'est-à-dire plus sévère, mais aussi plus longue et plus fréquente que la précédente [4] et plus difficilement soulagée par la prise de nitroglycérine que l'angine stable [41]. Dans un cas d'angine instable, il n'y a pas de changements des concentrations sériques d'enzymes cardiaques et l'ECG peut démontrer un sous ou un sus-décalage du segment ST ou, encore, des modifications de l'onde T [41]. Une activité inflammatoire locale, une fissure ou une rupture de la plaque avec agrégation plaquettaire, la formation de fibrine et une vasoconstriction anormale résument la pathophysiologie de l'angine instable et la plaque active [1, 4]. Tous ces facteurs causent une diminution progressive de la lumière artérielle. L'obstruction ou la menace d'obstruction soudaine dans le conduit artériel épicaudique explique le portrait plus sévère de l'angine instable, comparativement à l'angine stable [1]. Ainsi le substrat pathophysiologique de l'angine instable est similaire à celui de l'infarctus du myocarde. On attribue l'angine instable à une

obstruction moins importante et/ou moins soutenue de la lumière artérielle comparativement à l'obstruction de l'infarctus mais il est clair que ce qui débute cliniquement comme une angine instable peut (surtout si non traitée à temps) évoluer vers l'infarctus du myocarde.

1.5.3 Infarctus du myocarde

Dans l'infarctus du myocarde, il y a généralement une occlusion soudaine d'un vaisseau épicaudique, souvent due à une thrombose sur une plaque instable [1]. Une douleur d'infarctus est plus intense et soutenue que celle d'angine, se manifeste souvent au repos, peut dépasser 20 minutes et durer pendant quelques heures [1]. L'occlusion peut être complète ou partielle, causant une fourniture trop faible par rapport à un besoin en oxygène, même minime. L'ischémie de cette nature, que l'on peut déceler (dans certains cas mais pas toujours) par une élévation du segment ST, peut être transmurale et mener à la nécrose [1], dommage irréversible pour le muscle cardiaque et pouvant s'avérer fatal pour l'individu qui la subit. Le diagnostic d'un infarctus aigu du myocarde se base sur l'histoire du malade (comme une douleur sévère et prolongée), l'observation des tracés électrocardiographiques (anomalies du segment ST, développement anormal d'ondes Q persistantes ou inversion de l'onde T) et les variations des enzymes sériques (élévation de certaines molécules sériques spécifiques témoignant du dommage myocardique) [41]. Parmi les molécules sanguines dévoilant un diagnostic d'infarctus du myocarde, notons la myoglobine, la créatine kinase-MB (CK-MB) et la troponine. La première est une protéine se retrouvant rapidement dans le sang et l'urine après la nécrose cellulaire (pic maximal entre 5 et 12 heures après l'événement coronarien) [1]. La CK, un enzyme, prend parfois des heures à augmenter sa concentration sérique, mais demeure un critère de choix pour le diagnostic de l'infarctus du myocarde [1]. Finalement, les troponines cardiaques (TnT et I), protéines qui structurent les myofibrilles et permettent la contractilité du muscle cardiaque sont très sensibles, très spécifiques et permettent de porter, parfois avec plus de certitude, le diagnostic d'infarctus du myocarde [1]. Leurs concentrations peuvent demeurer élevées plusieurs jours après l'infarctus [1, 4]. L'augmentation des troponines est due à l'endommagement des myocytes par la nécrose [44].

Activité inflammatoire

1.6 Inflammation et réponse de la phase aigue

Plusieurs facteurs peuvent menacer l'homéostasie du corps humain par l'agression qu'ils constituent envers celui-ci et sont reflétés par une activité d'inflammation. Parmi les causes de l'activation du système inflammatoire, notons par exemple, une infection, un traumatisme (chute, contusion), une chirurgie, une brûlure, une blessure tissulaire, des réactions de l'organisme reliées à une faiblesse du système immunitaire ou induites par des cristaux (goutte), un cancer [12, 45-47] ou, dans le cas qui nous intéresse, à la MCAS, maladie inflammatoire [48]. L'initiation et la progression de la réponse de la phase aigue comprend une série d'étapes incluant l'activation des cytokines et des cellules endothéliales, le chimiotactisme leucocytaire et la modification du contrôle de la température corporelle par l'hypothalamus [11]. Ces changements systémiques, observés dans le corps humain et principalement régulés par les hépatocytes et selon les cytokines produites, ont été nommés la réponse de la phase aigue et peuvent mener à des changements substantiels des concentrations plasmatiques de nombreuses protéines [12, 45, 49, 50]. Alors, de nombreux changements peuvent être remarqués à différents sites, mêmes distants de la source inflammatoire concernée et impliquant plusieurs autres systèmes [12, 51]. Ces changements systémiques accompagnent les désordres inflammatoires aigus aussi bien que chroniques [12].

1.6.1 Aspects positifs de l'inflammation

La réponse inflammatoire de la phase aigue semble occuper un rôle crucial dans le rétablissement efficace de l'équilibre métabolique et physiologique [47, 51]. Elle constituerait, en quelque sorte, la réaction de défense de l'organisme qui voit son intégrité attaquée et vise à restreindre les dommages [11, 50]. La phase aigue de l'inflammation contribuerait à préserver les fonctions vitales et au contrôle des mécanismes de défenses en soi [50]. Elle est individuelle à chaque être humain et toutes ses composantes ne varient pas toutes uniformément chez les gens ayant la même maladie [12]. Finalement, la réponse de la phase aigue tend à rétablir l'homéostasie en isolant et en détruisant les corps infectieux, en éliminant les molécules néfastes et en activant le processus de réparation des tissus endommagés [11, 47, 50-52]. La cellule principalement associée à l'initiation de la cascade

inflammatoire est le monocyte (dans le sang circulant), qui se modifie en macrophage (*monocyte-derived macrophage*) dans les tissus [11]. Comme dans le cas des lésions athérosclérotiques, les macrophages activés relâchent un grand nombre de médiateurs, dont des cytokines, lesquelles occupent un rôle crucial dans les prochaines réactions du système inflammatoire [11].

1.6.2 Aspects négatifs de l'inflammation

Cependant, la phase aigue de l'inflammation n'est pas seulement bénéfique, pouvant également être impliquée dans le développement de diverses pathologies. Par exemple, il est possible que la réaction inflammatoire soit excessive par rapport au stimulus ou, encore, qu'en présence de maladies auto-immunitaires, la réaction inflammatoire se dirige de façon apparemment inappropriée contre les tissus, cellules et antigènes de l'organisme. On traite de ce phénomène dans la revue de Gabay et Kushner [12], où les auteurs présentent différents changements (comportementaux, physiologiques, biochimiques et nutritionnels) accompagnant l'inflammation. Puis, ils ajoutent que certaines cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-1 β , l'IL-6, la TNF- α et l'interféron- γ (INF- γ), contribueraient au processus de destruction du muscle squelettique, du tissu graisseux et de la masse osseuse, dont résulte la cachexie. Les auteurs rapportent également le retard de croissance comme une autre conséquence de la phase aigue de l'inflammation. À ce sujet, on suggère que l'IL-1 β et la TNF- α réduiraient l'expression des récepteurs de l'hormone de croissance au niveau des hépatocytes, conduisant à l'altération de la réponse de l'hormone de croissance et de faibles concentrations en *insulin-like growth factor I*. Bien que ces conséquences soient considérables sur l'organisme humain, plusieurs autres phénomènes tout aussi néfastes peuvent survenir en réponse à la phase aigue inflammatoire. Citons, parmi d'autres changements observés, l'ostéoporose, l'hypoferémie, la leucocytose, la thrombocytose, l'augmentation de la sécrétion d'arginine-vasopressine et de catécholamines...

1.7 Principaux acteurs de la cascade inflammatoire

1.7.1 Fonctions des cytokines

Synthétisées par différentes cellules (dont celles du système immunitaire) ou tissus, les cytokines sont des substances solubles essentielles à la communication de nos cellules.

Outre la régulation des activités et fonctions d'autres cellules (hormones, neuromédiateurs), la fonction principale des cytokines pro-inflammatoires, est de médier aux interactions entre les systèmes immunitaires et inflammatoires afin de maintenir un équilibre acido-basique [52]. Les trois principales cytokines produites et associées au processus inflammatoire sont l'interleukine-6 (IL-6), (principale médiatrice et régulatrice de la synthèse hépatique de plusieurs protéines de la phase aigue [12]), l'IL-1 et la TNF- α [11, 36, 50-53]. De plus, l'INF- γ , la *transforming growth factor* β (TGF- β), et possiblement l'interleukine-8 (IL-8) [12] sont d'autres cytokines observées lors du processus inflammatoire. Plusieurs cytokines pro-inflammatoires peuvent voir leur effet augmenté ou inhibé, soit par un facteur hormonal, par des récepteurs de cytokines antagonistes ou par des récepteurs circulants. De nombreuses cytokines peuvent réguler la production d'autres cytokines et de certains de leurs récepteurs [12, 51, 52]. Certains marqueurs inflammatoires peuvent être bénéfiques pour le statut inflammatoire et aident à résorber le processus, d'autres peuvent l'initier et assurer son maintien [12, 52]. Par exemple, la TNF- α ainsi que l'IL-1 contribuent à la pathogénèse de désordres inflammatoires immunitaires, comme l'arthrite rhumatoïde [52]. Cependant, la TNF- α peut jouer un rôle dans la réparation tissulaire [52] menant à la guérison d'une blessure.

Dans le cas de la MCAS, les cytokines sont produites par de nombreuses cellules, mais plus particulièrement par les macrophages et monocytes situés aux sites inflammatoires artériels [12, 51, 52]. Les cytokines, polypeptides intra et intercellulaires produits pendant le processus inflammatoire et qui y participent, sont responsables de la production et de la signalisation des protéines de la phase aigue produites par les hépatocytes [12, 46, 50, 51].

1.7.2 Protéines de la phase aigue

Il est bien accepté que les protéines de la phase aigue sont indispensables à la défense de l'organisme contre les dommages tissulaires et l'infection [54]. Lorsqu'une activité inflammatoire, en réponse par exemple à une infection, est observée chez quelqu'un, certaines protéines de la phase aigue sont modifiées, certaines à la hausse (protéines de la phase aigue positives), d'autres à la baisse (protéines de la phase aigue négatives) [12, 50, 51]. La principale protéine déployée dans le sang par l'intermédiaire des

cytokines est la protéine C-Réactive, ou plus communément appelée CRP. Notons également la protéine sérum amyloïde A (SAA) qui, tout comme la CRP, dévoile une activité inflammatoire lorsque sa production est activée par les hépatocytes, au signal des cytokines [12, 36, 46, 50, 51]. Parmi les autres protéines de la phase aigue, on peut observer, entre autres, une augmentation du fibrinogène, du plasminogène, de l'haptoglobine, de la ferritine et de l'angiotensinogène [12, 47]. D'autres protéines, comme l'albumine et la transferrine, diminuent lors de la réponse de la phase aigue [12, 47].

1.8 Marqueurs inflammatoires et MCAS

Plusieurs études expérimentales et cliniques récentes ont démontré que la MCAS implique une certaine activité inflammatoire au niveau des lésions athérosclérotiques, ce processus favorisant l'athérogénèse et ses complications [9, 32, 36]. Il est possible d'observer une activité inflammatoire apparemment plus chronique avec une modification de certains marqueurs inflammatoires que l'on sait associés à la MCAS et qui pourraient identifier les gens à plus haut risque de subir un événement cardiaque de nature ischémique [36]. Parmi les médiateurs indiquant une réaction inflammatoire au niveau de la paroi vasculaire durant l'athérogénèse, les variations (de type aigues dans ce cas-ci) de l'interleukine (IL)-6, la CRP, l'IL-18 et la MPO, présentées ci-dessous, ont été étudiées et mesurées chez nos participants.

1.8.1 Protéine C-Réactive: présentation et lien avec la MCAS

Principalement produite dans le foie par la cytokine pro-inflammatoire IL-6 [32, 46, 55, 56], la CRP est considérée comme un marqueur systémique majeur de la phase aigue du processus inflammatoire [56-58]. Hautement sensible, elle réagit rapidement au stimulus inflammatoire [46, 59, 60], telle une molécule de reconnaissance capable d'activer la réponse immunitaire [56]. La CRP peut voir ses concentrations augmenter jusqu'à 1000 fois ou plus par rapport à ses concentrations de base [12, 47]. La protéine est fréquemment élevée dans les cas de désordre auto-immunitaire, de traumatisme, d'infection et de malignité [46, 56, 59]. Des concentrations élevées de CRP sont également associées au tabagisme, à l'obésité, à d'autres infections comme la bronchite chronique, à la résistance à l'insuline, à des taux élevés de triglycérides et de glucose sanguin et de faibles taux de

lipoprotéines de haute densité (cholestérol HDL) [49, 61, 62]. La CRP fait partie des marqueurs non-spécifiques de la phase aigue, puisqu'elle répond à la plupart des formes d'inflammation [36, 45, 63], comme celles pré-citées. Son action sur la MCAS serait interreliée avec d'autres facteurs de risque, suggérant que l'intensité de la réponse de la phase aigue pourrait amplifier, à long terme, la déstabilisation de la plaque athérombotique [36, 46, 49, 60].

Cependant, il a été suggéré que la CRP pouvait être directement associée au risque de progression du processus athérosclérotique et certains l'ont présenté comme un marqueur sérique de l'athérombose [58]. La protéine permettrait la détection d'inflammation vasculaire et la prédiction de morbidité et de mortalité cardiovasculaire [9, 46, 59, 64]. Comme mentionné plus haut, la dysfonction endothéliale précède l'apparition des premières lésions athérosclérotiques. La diminution de la capacité de vasodilatation de l'endothélium est associée à des niveaux élevés de CRP [65]. Effectivement, il a été démontré que la CRP, à des concentrations suffisamment élevées pour prédire un événement vasculaire, modifierait la synthèse de NO par les cellules endothéliales [46, 66, 67]. La diminution de NO augmenterait l'expression des molécules d'adhésion cellulaires [46] et des cytokines pro-inflammatoires, qui s'installent alors plus facilement au niveau sous-endothélial, ce qui représente un facteur crucial dans l'athérogénèse [59]. Ce processus semble de surcroît, d'après certains chercheurs, favorisé par la présence de CRP, qui s'accumulerait aux sites d'inflammation ou de dommage tissulaire et influencerait l'expression des molécules d'adhésion cellulaires, l'adhésion et la migration leucocytaire [68, 69].

Dans des conditions normales, les cellules endothéliales et les leucocytes (monocytes/macrophages) ne causent qu'une faible activité procoagulante [69]. Certaines études ont suggéré que la CRP (aux sites inflammatoires), pourrait moduler, en partie, l'activité procoagulante impliquant le facteur tissulaire (glycoprotéine membranaire initiant la coagulation [70]), exprimée par les monocytes en périphérie [59, 61, 69, 71].

Toutefois, nous devons demeurer prudents et critiques face à de telles affirmations. Pepys et al., tout récemment, infirment ce qui fut publié concernant l'implication de la CRP dans

l'activité pro-coagulante [72]. En effet, leur article remet en question les expérimentations dont les préparations de CRP sur les cultures contaminées de cellules *in-vivo*, qui n'auraient pas été caractérisées ni contrôlées adéquatement. On conclut que les effets pro-inflammatoires et pro-thrombotiques attribués au CRP seraient des artéfacts causés par des contaminants bactériens et non à la CRP [72].

Au fil des années, une association a été dressée entre des concentrations plasmatiques importantes de CRP et la prédiction du risque d'ischémie ou d'infarctus du myocarde [49, 57, 60, 73]. Une étude a souligné le fait que plus les douleurs angineuses sont longues (>20 min), plus les concentrations de CRP sont élevées [74]. Il se produirait également une augmentation importante de la CRP après un infarctus du myocarde, sa magnitude étant le reflet de la nécrose myocardique [63, 75]. Cependant, comme Griselli et ses collègues l'ont suggéré, la CRP ne reflète pas seulement l'étendue des dommages de la nécrose cellulaire, mais contribuerait également à la sévérité de l'insulte ischémique au myocarde en tant que médiatrice dans le processus [76]. Pour toutes ces raisons, il n'est pas encore clairement établi que la CRP est un facteur de risque indépendant de la MCAS, entretenant la controverse concernant l'impact pathogène de la protéine ou son simple reflet de l'inflammation.

1.8.2 Interleukine-6: présentation et lien avec la MCAS

Dans la production des cytokines pro-inflammatoires, la TNF- α est d'abord produite, puis, il y a l'IL-1 et troisièmement l'IL-6 [51]. Les deux premières cytokines stimulent la production de l'IL-6, qui peut elle aussi assurer sa propre production [51]. L'IL-6 est significativement impliquée dans le fonctionnement du système immunitaire en stimulant des mécanismes de défense humoraux et cellulaires [77]. Il s'agit d'une cytokine multifonctionnelle occupant un rôle central dans la manifestation du système inflammatoire, une fonction d'alarme induite par une grande possibilité de stimuli menaçants pour l'intégrité de l'organisme [54]. En effet, elle est la principale médiatrice de la réponse de la phase aiguë et détermine la synthèse hépatique des protéines de la phase aiguë [11, 36, 56, 77, 78] dont la CRP et la SAA [47, 77], reflétant ainsi l'ampleur de la réaction de défense de l'organisme.

L'IL-6 est principalement produite aux sites inflammatoires par les lymphocytes, les CML, les macrophages, les cellules endothéliales et les fibroblastes [48, 50, 79]. Cette cytokine, occupant un rôle si important au niveau des réponses inflammatoires, on affirme qu'elle serait fortement associée à l'évolution des maladies cardiaques de nature ischémique [48, 79]. En effet, des études ont suggéré que des concentrations plasmatiques élevées d'IL-6/CRP traduiraient un risque plus important d'infarctus du myocarde et de mortalité chez les patients avec une MCAS [80-82]. En plus d'être associée à l'adiposité viscérale qui représente un facteur de risque pour les maladies cardiovasculaires (le gras sous-cutané produit l'IL-6) [83, 84], l'IL-6 peut réguler la production des molécules d'adhésion cellulaires, de l'IL-1 et favorise la prolifération des CML [59], entretenant ainsi le statut inflammatoire. L'IL-6 aurait un effet pro-thrombotique de par sa capacité à stimuler la production des plaquettes [79, 82] et à favoriser leur activation induite par la thrombine, permettant ainsi le développement du caillot de fibrine stable [79]. De plus, l'IL-6 augmente l'expression du facteur tissulaire, la production de fibrinogène, les facteurs de croissance et l'activation des cellules endothéliales et sa mesure, de paire avec les niveaux de CRP, est suggérée pour l'évaluation du risque de thrombose [79, 82].

1.8.3 Interleukine-18: présentation et lien avec la MCAS

L'interleukine-18, initialement identifiée comme le facteur de production de l'IFN- γ , est une cytokine inflammatoire occupant un rôle de tout premier plan dans la coordination de la cascade des cytokines et dans la régulation des processus immunitaires [59, 85-88]. Sa production est assurée par les cytokines pro-inflammatoires et les lipopolysaccharides [86], par les cellules endothéliales et les macrophages infiltrant la paroi vasculaire, en plus d'être observée aux régions inflammatoires au niveau des cardiomyocytes [89]. De paire avec l'interleukine-12, dont elle stimule la production, l'IL-18 favorise, entre autre, la production des marqueurs inflammatoires comme la TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 par les monocytes, ce qui mène à une augmentation des molécules d'adhésion [59, 85]. Comme discuté précédemment, ce processus mène à une prolifération des cellules endothéliales et des cellules musculaires lisses, diminuant la synthèse de collagène [59]. L'action synergique de l'IL-18 et de l'IL-12 module la production de l'IFN- γ par les lymphocytes T, active les *natural killer cells*, et les macrophages, favorise le développement des réponses des cellules

T helper [86-88, 90-92]. L'accumulation d'un grand nombre de ces cellules aux sites de rupture de la plaque contribuerait à sécréter des enzymes affectant l'intégrité des tissus et favoriserait la rupture de la plaque athérosclérotique [93].

Il a été démontré que l'IL-18 pourrait refléter la sévérité de la MCAS [94]. Dans cette étude, des concentrations plasmatiques d'IL-18 plus élevées furent enregistrées chez les patients hospitalisés pour SCA que chez les patients avec angine stable ou chez les patients contrôles. De plus, les concentrations d'IL-18 retrouvées chez les patients seraient reliées à leur fonction ventriculaire diminuée [94]. La cytokine pourrait avoir un impact dans la progression de l'athérosclérose avec la détection de hautes concentrations du marqueur dans les lésions athérosclérotiques. Cette observation de Mallat et al. [95] démontrant que la cytokine est surtout produite par les macrophages au niveau des plaques athérosclérotiques, suggère la forte influence de l'IL-18 dans la déstabilisation et la complication de la plaque et le déclenchement des SCA. Une association significative a été postulée entre les niveaux sériques d'IL-18 et le risque de futurs événements d'ordre cardiovasculaire chez les patients avec MCAS [86, 96]. Ces études dénotent une association importante entre l'expression de l'IL-18, l'inflammation systémique et la vulnérabilité de la plaque athérosclérotique, indépendamment des autres facteurs de risque et soulignant la faible corrélation entre l'expression de l'IL-18 avec les autres marqueurs inflammatoires comme la CRP, l'IL-6 et le fibrinogène [86, 96]. Les chercheurs affirment que la pertinence de l'IL-18 n'est pas atténuée par les facteurs de risque devant être considérés dans la prédiction du risque d'événements coronariens, contrairement aux marqueurs inflammatoires mieux connus tels la CRP, l'IL-6 et le fibrinogène, lesquels ont des concentrations plasmatiques influencées par les facteurs de risque classiques [96]. Cette découverte nous présente le marqueur inflammatoire comme un outil intéressant pour l'évaluation clinique de la MCAS, bien que relativement encore nouveau.

1.8.4 Myeloperoxydase: présentation et lien avec la MCAS

Les leucocytes polymorphonucléaires (neutrophiles) ont comme fonction primaire la phagocytose et la destruction des microorganismes [97]. Une fois le microorganisme dans le phagosome intracellulaire, il se produit une consommation explosive de l'oxygène,

laquelle est convertie en *highly reactive oxygen species* [97]. C'est alors que les granules cytoplasmiques déchargent leur contenu à l'intérieur du phagosome; les enzymes alors stockées à l'intérieur des granules de neutrophiles et de monocytes sont relâchées lors de l'activation leucocytaire et la dégranulation [98, 99], avec comme conséquence la destruction des microorganismes [97]. Pendant le processus de dégranulation dans le phagosome, l'une des substances anti-microbiennes produites est la MPO, dont le produit principal est l'acide hypochloreux (HOCl), un puissant agent oxydant [97, 100, 101].

La MPO est une enzyme abondamment sécrétée par les neutrophiles, les monocytes et certains macrophages retrouvés dans les plaques athérosclérotiques [98]. Sa synthèse s'amorce pendant la différenciation myéloïde au niveau de la moelle osseuse et se complète au niveau des granulocytes, ce qui précède leur entrée dans la circulation. La MPO prend la forme de radicaux libres et d'oxydants se diffusant lors d'une réaction anti-microbienne [98], elle permettrait une certaine oxydation des protéines et des lipides aux lésions cardiovasculaires [99]. La MPO étant une composante du système anti-microbien à l'intérieur du phagosome, il faut mentionner également que l'enzyme peut être relâché à l'extérieur de la cellule, par une liaison précédant la fermeture du phagosome et aussi par sa sécrétion d'un neutrophile [102]. Toutes ces actions décrivent les rôles connus du leucocyte: la gestion du système immunitaire et la défense de l'organisme [99]. Cependant, dans un contexte de MCAS, la MPO pourrait jouer un rôle dans la complication des SCA.

Tout d'abord, au niveau endothélial, la MPO contribue à la dysfonction vasculaire pendant la phase inflammatoire aigue en affectant la biodisponibilité du NO, compromettant la relaxation vasculaire [103]. Puis, des concentrations plasmatiques élevées de MPO seraient associées à la présence de la maladie coronarienne, suggérant un rôle pro-inflammatoire de l'enzyme dans la MCAS et sa présence dans les SCA [98, 104, 105]. Effectivement, les concentrations augmentées de MPO ont été associées à la présence d'athérosclérose coronarienne diagnostiquée à l'aide d'un examen angiographique [98]. Plus récemment, on rapporta que les concentrations de MPO mesurées chez des sujets avec SCA s'exprimeraient de façon indépendante par rapport aux concentrations de TnT et de CRP [105, 106]. En effet, la MPO varierait de façon similaire, indépendamment des niveaux de

troponine T associés, ceci suggérant qu'elle ne soit pas un marqueur temporaire de dommage myocardique comme la TnT [105]. Ces études [105, 106] ont fait remarquer que les mesures de MPO observées avec des concentrations faibles de TnT prédiraient le risque d'événement cardiovasculaire chez les sujets avec SCA. La production de MPO révélerait une plaque athérosclérotique instable bien avant l'obstruction complète du vaisseau et la nécrose myocardique. Cette observation suggère l'utilité de la MPO pour identifier les individus davantage à risque d'événement cardiaque.

Plus concrètement, de récentes études ont démontré la présence de la MPO et des produits de ses réactions (dont l'HCOI) dans les plaques athérosclérotiques humaines [101, 107]. Il a également été mentionné que l'HCOI, par son effet pro-oxydant, convertirait les particules de LDL en une forme athérogénique et permettant aux macrophages de les absorber [101, 107]. À ce propos, Sugiyama et al. [104] ont découvert, dans les macrophages se trouvant dans les plaques athéromateuses compliquées (instables), une forte concentration de MPO. Ils ont aussi souligné le fait que ces macrophages s'accumuleraient localement aux sites de rupture des plaques athérosclérotiques. Ainsi, l'accumulation de la MPO produit par les macrophages locaux pourrait déstabiliser l'athérome, augmentant le risque de thrombose [104].

Exercice physique et système inflammatoire

Les vertus de l'exercice physique sur la santé, aussi bien physique que mentale, ont été maintes fois discutées. Partie intégrante d'une stratégie de combat de l'obésité, l'exercice physique favorise, entre autres, le contrôle de la glycémie, de la tension artérielle et même du profil lipidique. Par un meilleur contrôle des facteurs de risque de la maladie cardiovasculaire, l'individu à risque diminue ses chances de développer la maladie.

1.9 Effet anti-inflammatoire de l'activité physique régulière

Plusieurs études ont associé l'exercice physique à une diminution de l'incidence de maladie coronarienne [108-111], celle-ci étant intimement liée au statut inflammatoire. Sachant ceci, il est pertinent de se demander si l'exercice physique atténue le risque de

maladie coronarienne par la diminution et la prévention d'une stimulation du système inflammatoire.

Dans la population générale adulte, plusieurs études en viennent à la conclusion que la pratique régulière d'activité physique aurait un effet anti-inflammatoire, ce qui diminuerait l'incidence de la maladie coronarienne [17, 18, 112-114]. En effet, il a été démontré qu'une augmentation de la fréquence de l'activité physique était associée à une diminution de marqueurs inflammatoires sériques tels la CRP, le fibrinogène et le contenu sanguin en leucocytes et en plaquettes [17, 18, 112-115]. Une étude de Geffken et al. [17] suggère que l'association : activité physique augmentée / inflammation diminuée, pourrait s'expliquer par une diminution de l'obésité abdominale et des taux de glucose sanguins plus bas. À ce sujet, les adipocytes des obèses produiraient des concentrations plus élevées d'IL-6 et de TNF-a que chez les sujets contrôles [115-117]. La perte de poids engendrée par l'exercice physique pourrait expliquer, du moins en partie, la diminution de l'activité inflammatoire.

1.10 Réponses inflammatoires aiguës induites par l'exercice physique soutenu

Dans les années 1970, il est devenu de plus en plus évident qu'un effort physique exhaustif est souvent associé à des variations des composantes sériques s'apparentant à une réponse de la phase aiguë [118]. En effet, les cytokines et les neutrophiles étant les principales cellules impliquées dans la défense de l'organisme et la réaction inflammatoire aiguë, il est intéressant d'observer leur modification découlant d'un exercice physique soutenu.

À la suite d'efforts physiques exhaustifs et prolongés (marathon [14], course de 20 km [119]), d'importantes concentrations de cytokines ont été détectées chez les athlètes. Il fut alors permis de confirmer la réponse immunologique systémique lorsque l'on accomplit un exercice physique soutenu [118]. De plus, il se produit une augmentation significative des neutrophiles en réponse à l'exercice physique. On explique ce phénomène par la démargination des cellules se trouvant au niveau endothélial (médiée par les cathécholamines), et la moelle osseuse (médiée par le cortisol) ou encore à la réponse

inflammatoire et phagocytaire causée par les dommages tissulaires (micro-traumatismes) lors de l'exercice [13].

Plusieurs conditions influencent l'activité du système inflammatoire. Nous savons maintenant que l'exercice physique semble engendrer une modulation des systèmes inflammatoire et immunitaire par les variations des concentrations sériques des cytokines et des neutrophiles, entre autres. Chez le malade coronarien, il existe déjà une certaine activité inflammatoire, mais dans quelle mesure l'exercice physique influence l'inflammation? Voilà l'intérêt de vérifier la relation entre l'activité physique et l'inflammation chez le sujet sain, lequel devrait avoir une condition inflammatoire inactive. En ce qui concerne les quatre marqueurs inflammatoires qui nous intéressent dans le présent projet, voici une revue de leurs variations à l'exercice physique soutenu.

1.10.1 Protéine C-Réactive: variations avec l'exercice

En ce qui concerne la réponse de la phase aiguë et les modifications de la CRP à l'exercice prolongé et de haute intensité chez l'athlète, on remarque une augmentation significative de la protéine après l'effort. En effet, immédiatement après un exercice intense et maintenu tel un marathon [15] ou un triathlon [16], on note des concentrations augmentées de la CRP dans les 24 heures suivant la fin de l'effort.

Puis, à la suite de tests d'effort suivant un protocole plus court et plus classique comme le Bruce, des groupes de recherche ont rapporté que les concentrations de CRP ne varieraient pas significativement après l'épreuve d'effort chez la population d'âge mûr avec angine chronique stable [120], ou celle avec MCAS connue ou suspectée, où l'angine de poitrine était caractérisée selon différents degrés de sévérité [121]. Ces mêmes études ont suggéré qu'il n'existerait pas de corrélation entre la réponse de la CRP et l'ischémie myocardique induite par l'exercice [120] ou avec le seuil ischémique, et ce chez les individus ayant démontré une réponse ischémique lors de leur test [121]. Ces observations proposent donc que l'augmentation de la CRP ne dépendrait pas de l'ischémie myocardique lors d'un exercice exhaustif, mais représenterait plutôt un marqueur du processus inflammatoire impliqué dans la pathogénèse de l'ischémie [120]. En définitive, bien que les concentrations

sériques de CRP ne seraient pas reliées au degré chronique d'obstruction de la lumière artérielle, celles-ci seraient inversement associées à la performance à l'exercice (au niveau de la fréquence cardiaque maximale et de la charge de travail atteintes) [121]. Donc, considérant ces résultats, le sujet plus performant démontrerait une moindre réponse inflammatoire à l'exercice aigu. Ce phénomène pourrait-il s'expliquer par le fait que les sujets pouvaient être physiquement actifs, donc plus entraînés au moment de faire ces tests, ce qui aurait entraîné une moindre réponse inflammatoire à l'exercice, tel qu'expliqué au début de cette section [17, 18, 112-115] ?

Puis, une autre étude nous présente des patients référés pour angine de poitrine typique d'effort et/ou de repos mais avec une coronarographie normale (sans sténose significative) [74]. Elle démontre que les patients avec un test d'effort positif (≥ 1 mm de dépression du segment ST) semblent obtenir des concentrations de CRP significativement plus élevées que ceux avec tests négatifs [74]. Il est important de mentionner que les concentrations de CRP obtenues étaient les plus élevées chez les gens qui avaient des épisodes d'angine plus fréquentes et prolongées dans le quotidien, que chez les individus aux épisodes moins sévères. On suggère ici que la protéine est sensible, s'exprimant en fonction des symptômes et de l'ischémie myocardique notable électriquement lors d'un test d'effort [74].

Tel que nous pouvons le constater, les résultats présentés dans la littérature portent bien souvent sur les sujets plus jeunes et athlétiques ou, à l'extrême, les malades. De plus, ces études en arrivent bien souvent à des résultats et conclusions divergentes. Bien que la CRP soit l'un des marqueurs inflammatoires sanguins les plus étudiés, sa réponse à l'exercice maximal, chez le sujet sain d'âge mûr, n'est certes pas encore bien définie. En effet, les investigations à ce sujet sur une population plus âgée étant très rares, il est impossible de tirer une conclusion claire de ce que devrait être la réponse de la CRP à l'exercice bref et intense chez de tels individus.

1.10.2 Interleukine-6: variations avec l'exercice

L'IL-6 est sans contredit un marqueur inflammatoire qui s'exprime de façon remarquable à la suite d'un exercice physique de haute intensité. Il fut démontré que, chez

l'athlète qui accomplit un effort intense prolongé (marathon), la cytokine inflammatoire s'exprime de façon explosive ; ses plus hautes concentrations sont observées immédiatement après l'effort, puis diminuent dès l'arrêt de l'exercice [14, 122, 123]. Bien que cette augmentation reflète habituellement la réponse de la phase aigue, l'arrêt de l'exercice physique n'est pas suivi ici d'une réponse inflammatoire systémique complète. Les auteurs expliquent ceci par le fait que les cytokines anti-inflammatoires, les récepteurs solubles ainsi que les récepteurs antagonistes pourraient restreindre l'étendue de la réponse à l'exercice [122].

On s'accorde pour dire que l'augmentation de l'IL-6, dans un but de guérison des tissus endommagés, pourrait être attribuable aux micro-déchirures des fibres musculaires infligées par l'exercice physique [123-125]. On a également considéré la possibilité que la cytokine pourrait occuper un rôle dans l'adaptation métabolique de l'organisme lors d'une condition de stress, qu'elle soit de nature inflammatoire ou non [126, 127]. En effet, on a remarqué que l'augmentation de l'IL-6 favoriserait la résistance à l'insuline et la production du glucose hépatique [126, 127], ce qui permet au muscle squelettique qui accomplit un effort soutenu ou prolongé de poursuivre son effort. À la suite de ces résultats, il a été proposé que l'IL-6 serait produite par le muscle squelettique en action [126]. Dans cet ordre d'idées, le même auteur observe aussi que la disponibilité du glycogène musculaire aurait un impact sur la production de l'interleukine-6. Il propose que dans le muscle pré-exercé et donc plus faible en glycogène, les concentrations d'IL-6 s'élèvent plus rapidement que dans le muscle non préalablement exercé [128].

Une étude [129] s'est intéressée à l'impact d'un exercice sur ergocycle sur les concentrations de cytokines, dont l'IL-6, chez les insuffisants cardiaques. Tout d'abord, on doit savoir que le groupe malade avait des niveaux d'IL-6 significativement plus élevés au repos que les sujets contrôles. À la suite du test d'effort maximal, on a pu observer une augmentation significative de l'IL-6 chez les deux groupes. Puis, on remarque une corrélation positive entre les changements plasmatiques en IL-6 et en catécholamines, et ce chez les sujets sains, supposant que la production d'IL-6 pourrait être influencée par le système sympathique durant l'exercice [129].

Tout comme pour la CRP, l'impact d'un exercice physique maximal sur les concentrations d'IL-6, chez la population d'âge mûre, n'est pas bien défini. Nous avons constaté que cette relation a été étudiée le plus souvent chez les jeunes adultes, les athlètes et chez les malades cardiaques, et très peu chez l'individu normal, plus âgé, et dont le système inflammatoire n'est pas modifié par l'entraînement régulier ou la MCAS.

1.10.3 Interleukine-18: variations avec l'exercice

Les réactions du marqueur inflammatoire IL-18 à l'exercice sont encore très peu connues. Dans une étude publiée en 2005 [130], des chercheurs affirment qu'aucune information sur l'impact d'un exercice exhaustif et prolongé sur la réponse physiologique de l'IL-18 n'aurait encore été publiée avant eux. L'investigation en question porte sur la réponse de la cytokine pro-inflammatoire à l'exercice soutenu et prolongé chez des cyclistes marathoniens. Avec cette étude, il est intéressant d'observer aucun changement significatif immédiatement après la course et une diminution significative et prolongée de l'IL-18, 24 heures après le marathon cycliste d'une journée [130]. Cette réponse concorde avec les observations de Shephard et Shek [131], qui affirment que les réponses aiguës à l'exercice dépendent de l'intensité et de la durée de l'activité, relativement à la condition physique de l'individu à l'effort. Puis, on mentionne que l'entraînement physique régulier, progressif et individualisé, en améliorant la fonction immunitaire, réduirait les réactions pro-inflammatoires observées à différentes intensités d'exercice [131]. Ils ajoutent qu'un exercice d'endurance régulier et d'intensité modérée ne cause pas réellement de réaction ou encore un accroissement des acteurs de la cascade inflammatoire (décompte leucocytaire, granulocytaire, monocytaire et lymphocytaire, entre autres) [131]. Selon les auteurs, un exercice exhaustif (tel le marathon cycliste d'une journée) produirait les changements inverses (réaction inflammatoire négative), particulièrement si l'effort est réalisé dans un environnement stressant ou dans un contexte de compétition [131].

1.10.4 Myeloperoxidase: variations avec l'exercice

Ceci est bien établi, l'activation des neutrophiles est l'un des importants changements observés pendant un exercice physique intense [13, 132-134]. Nous savons qu'à la suite d'un exercice maximal de courte durée, la dégranulation des neutrophiles est

associée à une rapide élévation des concentrations de MPO [133, 135]. Cette activation des neutrophiles est aussi observée à la suite d'exercices prolongés, réalisés selon différentes intensités [132, 135, 136]. Il s'en suit donc une augmentation significative de la MPO, avec des concentrations maximales à la toute fin de l'effort et un retour à la normale après environ une heure de récupération [132]. Les rares recherches sur le sujet affirment que l'intensité de l'exercice est un important paramètre de la magnitude de la dégranulation neutrophilique responsable de l'augmentation de la MPO [132, 133, 136].

Plusieurs expliquent que l'activation des neutrophiles et de la MPO post-exercice découlerait d'une réponse inflammatoire aigue enclenchée par certains dommages aux muscles squelettiques et résultant en une augmentation des radicaux libres circulants [135, 137, 138]. Une étude [135] s'est intéressée au type de contraction musculaire pour l'observation de la réponse de la MPO. Effectivement, la marche (en inclinaison) et la course (en déclinaison), pratiqués à une intensité modérée (60% VO₂ max) pendant 20 minutes, causent tous deux une augmentation significative du nombre de neutrophiles. La MPO, quant à elle, augmenta significativement à la suite de l'exercice de course en déclinaison, mais pas à la marche sur un plan incliné. Les contractions excentriques de la course en déclinaison, plus dommageables pour le muscle, pourraient avoir causé l'activation de la MPO [135].

Finalement, comme les marqueurs inflammatoires précédents, la réponse de la MPO à l'exercice aigu n'est pas connue chez le sujet d'âge mature. Certes, en parcourant la littérature, nous retrouvons des études qui ont observé l'association MPO-exercice intense. Cependant, au meilleur de nos connaissances, les résultats publiés décrivent toujours des études réalisées sur des sujets plus jeunes, voire athlétiques, qui accomplissent bien souvent des efforts de longues durées. Nous croyons qu'il est important de connaître comment le système inflammatoire se comporte chez des sujets plus âgés et non-spécifiquement entraînés, donc plus représentatifs de la population à risque.

Marqueurs de dommages musculo-squelettiques activés par l'exercice

Certaines protéines plasmatiques témoignent d'une atteinte (dommage) structurelle de l'appareil contractile induite par l'exercice intense en variant leurs concentrations [139]. Afin de pouvoir expliquer l'activation du système inflammatoire, il est important de vérifier l'impact des dommages musculaires sur celle-ci. Les deux marqueurs suivants, précoces et populaires, sont souvent observés afin de mieux comprendre la réaction inflammatoire post-exercice du corps humain. Cette section se terminera avec une revue succincte des connaissances actuelles quant aux dommages musculaires induits pas l'exercice excentrique, puis concentrique.

1.11 Myoglobine

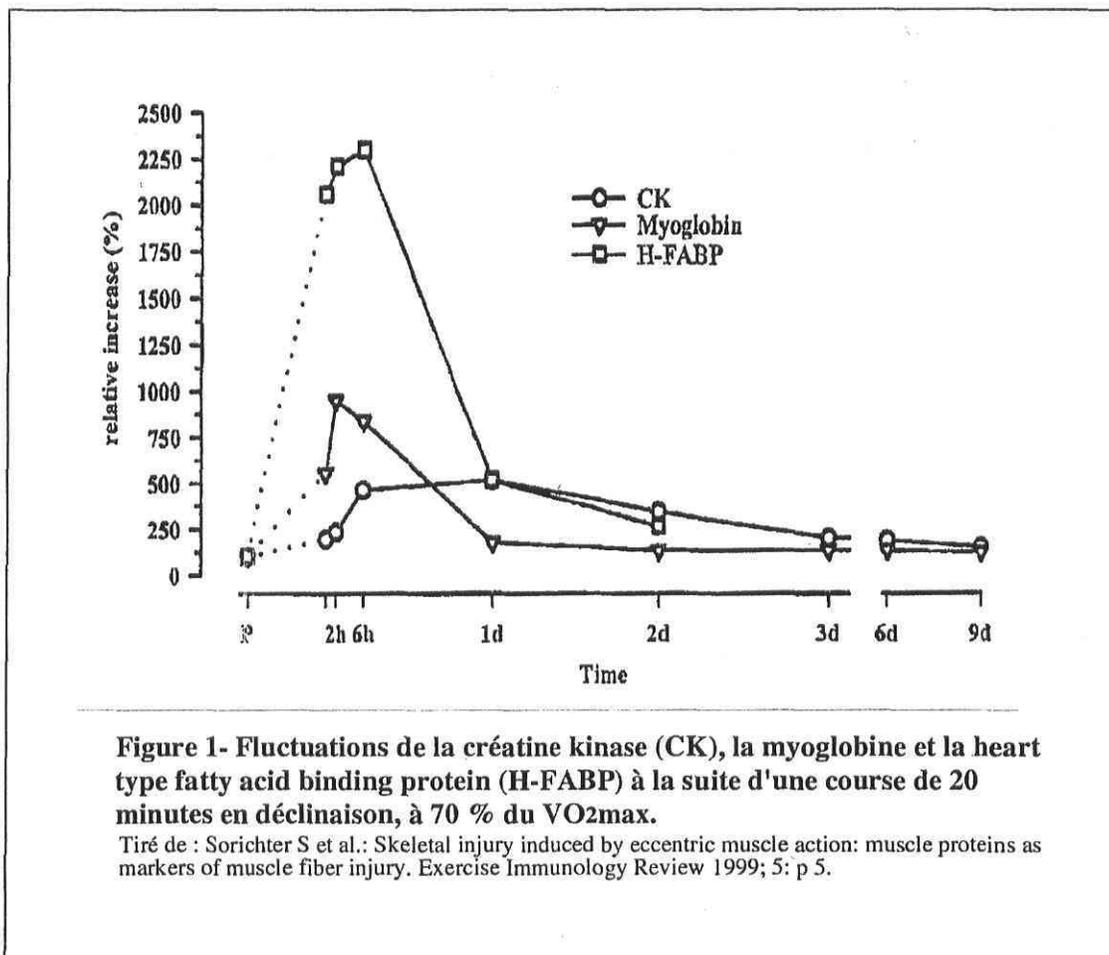
La myoglobine est une protéine de faible poids moléculaire contenue dans le sarcoplasme (cytoplasme de la fibre musculaire) [19]. On la retrouve uniquement dans les muscles striés (cardiaques et squelettiques), près du sarcolemme, ou appareil contractile [139]. Elle emmagasine et transporte les molécules d'oxygène nécessaires à la production d'énergie (adénosine-triphosphate ou ATP), dans les mitochondries, pour permettre la contraction musculaire [19, 139]. La myoglobine se retrouve rapidement, dans le sérum et l'urine, après la nécrose cellulaire et l'on observe ses concentrations sériques maximales en quelques heures (1 à 4 heures environ) après l'infarctus du myocarde, permettant un diagnostic précoce de l'événement coronarien [4]. Comme l'affirment Sorichter et al. dans leur revue, la protéine serait largement utilisée en tant que marqueur de dommages musculo-squelettiques, étant retrouvée principalement dans les fibres de type I, ou à contraction lente [139].

1.12 Créatine kinase

La créatine kinase, ou CK, est une enzyme de première importance dans le métabolisme énergétique et musculaire [139]. La CK, dont les plus fortes concentrations sont retrouvées dans le muscle squelettique [139], catalyse le transfert d'un groupement phosphate riche en énergie de l'ATP à la créatine, formant de la créatine phosphate et de l'ADP (adénosine-diphosphate) [19, 139]. Puis, lorsque ses concentrations commencent à s'élever, la CK catalyse de nouveau le transfert d'un groupement phosphate riche en énergie

de la créatine phosphate à l'ADP [19]. Cette phosphorylation crée rapidement de nouvelles molécules d'ATP. La CK se lie spécialement aux myofibrilles des muscles squelettiques et à celles du myocarde. Étant composée, soit de sous-unités B (brain) ou M (muscle), la CK a 3 isoenzymes; CKBB, CKMB ou CKMM, cette dernière compose la majeure partie de l'activité de la CK totale dans le muscle squelettique [139].

La figure 1 illustre la libération typique de trois protéines cytoplasmiques indicatrices de dommages musculaires, dont la myoglobine et la CK, à la suite d'un effort musculaire excentrique d'intensité modérée. Si l'on observe ce graphique, la myoglobine s'exprimerait très rapidement, avec une concentration maximale environ 2 heures après l'exercice physique [139]. Sa diminution serait également rapide, retournant à des valeurs normales en moins de 24 heures post-exercice [139]. Pour sa part, la CK semble s'élever en concentration de façon plus tardive (augmentation significative environ 6 heures post-exercice), pour diminuer plus lentement, et ce sur plusieurs jours suivant l'effort physique [139].



1.13 Dommages musculo-squelettiques et travail excentrique

Il est aujourd'hui clairement établi que l'action musculaire excentrique endommage les muscles squelettiques impliqués dans ce type de contractions [139, 140]. De façon générale, il ressort que les contractions de type concentriques seraient moins dommageables que les excentriques. Les contractions isotoniques excentriques répétitives (comme la course en déclinaison) causent un allongement général musculaire répété, ce qui provoquerait davantage de lésions et de douleurs musculaires que les contractions isotoniques concentriques, où le muscle se raccourcit [19]. Les dommages d'un travail musculaire excentrique inhabituel et intense s'observent au niveau cellulaire, où les disques Z et les myofibrilles se trouvent perturbées [141]. Le phénomène implique alors un processus inflammatoire, accompagné par l'augmentation de certaines protéines musculaires dans le sang, lesquelles témoignent de l'ampleur des dommages [139]. De

nombreuses protéines sont retrouvées dans la musculature squelettique et peuvent attester de leur atteinte, comme le lactate dehydrogenase (LDH), le H-FABP (*heart fatty acid binding protein*) ou le CA III (*carbonic anhydrase isoenzyme III*) [139].

Outre ces marqueurs, plusieurs ouvrages mentionnent l'augmentation de la myoglobine et la CK, en réponse à des contractions musculaires excentriques inhabituelles [139, 140, 142, 143]. De plus, cette réponse post-exercice serait relative à la masse et aux groupes musculaires exercés, à l'intensité de l'exercice en question, à l'allongement des muscles sollicités, ainsi qu'au niveau d'activité préalable des sujets [139].

1.14 Dommages musculo-squelettiques et travail concentrique

Cependant, l'effet moins néfaste du travail concentrique ne semble pas faire l'unanimité dans la littérature. Certaines études ont évalué l'effet d'exercices de nature concentrique sur l'intégrité des muscles, de par la production d'IL-6, laquelle témoignerait des dommages musculo-squelettiques [124]. Notons l'étude d'Ostrowski et al. [123], où l'on détecta l'augmentation d'IL-6 plasmatique après 30 minutes de course sur un tapis roulant dont l'inclinaison était de 2,5%, chez des athlètes d'endurance d'âge adulte.

Puis, selon un tout autre protocole, on évalua l'effet d'extensions dynamiques d'un genou (pur travail concentrique des muscles sollicités), chez de jeunes hommes en santé, sur les variations plasmatiques de l'IL-6 [126]. Cette étude a permis d'observer une augmentation franche des concentrations d'IL-6 après plusieurs heures d'extension du genou, comparativement à la jambe contrôle (au repos). Les contractions musculaires excentriques sont écartées ici pour expliquer cette réponse inflammatoire, mais la force de contraction exigée par le protocole est suggérée par les auteurs pour expliquer le phénomène.

Finalement, bien que certaines investigations soutiennent que les contractions de type concentriques sont nuisibles aux muscles squelettiques de par l'augmentation de l'IL-6 plasmatique, nous ne savons rien de l'expression de la myoglobine et de la CK en réponse à un exercice concentrique.

Évaluation vasculaire par échographie chez le sujet sain

Comme précédemment discuté, l'athérosclérose débute et évolue au niveau de l'endothélium dysfonctionnel, où les fonctions de protection de l'intégrité de la paroi et de régulation du tonus vasculaire sont compromises. Il est possible d'évaluer dans quelle mesure les artères sont affectées par l'athérosclérose à l'aide de mesures échographiques vasculaires par ultrasons. Tout d'abord, une évaluation de la fonction endothéliale nous permet de mesurer la capacité de vasodilatation de l'artère brachiale à la suite d'un stress infligé à la vasculature. Dans un deuxième temps, un test évaluant l'épaisseur de l'intima-média (I-M) carotidienne permet de mesurer l'épaississement par athérosclérose des parois artérielles du cou. Ces deux examens échographiques, l'un fonctionnel et l'autre anatomique, révélant le statut de l'endothélium vasculaire, prouvent leur utilité dans la détection du risque athérosclérotique d'un individu [144-146]. Cette possibilité est d'autant plus intéressante si l'individu a déjà une histoire de maladie cardiovasculaire ou est suspecté d'avoir la maladie. Il est donc pertinent de connaître les valeurs normales obtenues lors de tels tests chez l'individu d'âge mûr (âge de la population malade typique) sans évidence de maladie cardiovasculaire, afin de mieux évaluer les malades.

1.15 Fonction endothéliale de l'artère brachiale

Nous savons que l'endothélium dysfonctionnel a une capacité vasodilatatrice réduite, donc une capacité moindre à supporter la fonction cardiovasculaire et qu'il est associé au développement, à la progression et aux manifestations de l'athérosclérose. L'échographie par ultrasons de l'artère brachiale mesurant la fonction endothéliale est reconnue en quelque sorte comme un baromètre de la santé vasculaire [147, 148]. La technique d'imagerie en mode-B (bidimensionnelle) permet une estimation plus précise du diamètre artériel, offrant la possibilité d'analyser l'information spatiale contenue dans l'image 2D [149].

La réponse normale de vasodilatation associée à une fonction endothéliale considérée normale serait de 5 à 15 % du diamètre artériel de départ, comparativement aux patients avec maladie cardiovasculaire, où la variation du diamètre peut être réduite ou absente

[150, 151], mais bien souvent aux alentours de 5 %. La condition vasculaire est évaluée selon deux grandes étapes, présentées ci-dessous.

1.15.1 Fonction endothéliale induite par hyperémie réactive

Il est bien établi que l'augmentation du débit sanguin dans un vaisseau normal cause sa dilatation, principalement engendrée par la sécrétion de NO au niveau endothélial. Le test de fonction endothéliale par hyperémie réactive reflète la capacité de relaxation de l'artère suivant une augmentation du flot sanguin (*shear stress* ou augmentation du stress sur les parois) [146] ce qui libère du NO normalement d'un endothélium sain. La vasodilatation engendrée par le test est dite, ici, dépendante de l'endothélium.

L'augmentation locale et temporaire du flot sanguin au niveau des parois artérielles périphériques peut être obtenue par le procédé appelé hyperémie réactive [146]. Après un repos d'au moins 10 minutes dans la position couchée, l'artère brachiale est scannée longitudinalement, sur une distance allant parfois jusqu'à 2 à 15 centimètres au-dessus du coude [152]. Dans ce cas, le technicien en échographie gonfle un brassard pneumatique, placé au niveau de l'avant-bras, jusqu'à une pression de 220 mmHg, et ce pendant 4 à 5 minutes, provoquant une condition ischémique [146, 149, 152]. Le brassard se dégonflant cause une diminution instantanée de la résistance vasculaire et une augmentation du flot sanguin local en réaction à l'ischémie. Le résultat de l'opération s'observe sur la fonction endothéliale, laquelle entraîne l'augmentation du diamètre artériel dans le cas normal [146]. Le diamètre est immédiatement mesuré pendant 60 à 90 secondes, afin d'enregistrer la dilatation maximale post-hyperémique [146, 152]. La fonction endothéliale est déterminée comme étant un pourcentage de la modification du diamètre artériel (la médiane est ici considérée) par rapport aux mesures initiales [146].

1.15.2 Vasodilatation induite par nitroglycérine

La vasodilatation maximale de l'artère brachiale peut être déterminée avec la prise d'une dose (0.3 mg) de nitroglycérine (TNT) sublinguale et être observée de 3 à 4 minutes après l'administration du médicament [146]. Dix minutes au moins doivent séparer l'hyperémie réactive et la prise de nitroglycérine, afin de rétablir une condition artérielle

normale pour la deuxième partie du test [146, 152]. La vasodilatation induite par la nitroglycérine montre une réponse indépendante de l'endothélium. Ceci s'explique par le fait que la prise de la substance vasodilatatrice agit directement sur la vasculature musculaire lisse (CML), au niveau de la média [152]. Bien que cette partie de l'évaluation ne nous informe pas sur le bon fonctionnement endothélial, il peut nous indiquer une possible dysfonction du muscle lisse artériel. En effet, bien que cette notion ne semble pas formellement connue et acceptée, la présence de facteurs de risque cardiovasculaires chez un individu pourrait causer une dysfonction des CML plus apparente, lesquelles auraient alors une réponse diminuée à la TNT, indépendamment de la fonction endothéliale [152].

1.15.3 Fonction endothéliale et MCAS

Une vasodilatation altérée induite par hyperémie réactive fut démontrée chez les individus sains évoluant avec plusieurs facteurs de risque comme le tabagisme [153, 154], l'âge [155], l'hypercholestérolémie [156] ou encore le diabète [157]. Puis, chez les sujets suspectés d'avoir la MCAS et avec lésions athérosclérotiques causant $\geq 50\%$ d'obstruction du flot à l'angiographie, la fonction endothéliale est significativement réduite comparativement aux sujets aux artères saines [158]. Ici, comme dans la relation fonction endothéliale/tabagisme, la vasodilatation induite par la prise de nitroglycérine ne serait pas différente entre les sujets malades et les sujets sains [158]. Les auteurs concluent qu'une obstruction moins importante des artères coronariennes ne causerait pas nécessairement d'atteinte de la sensibilité des CML au NO. Puis, chez les patients souffrant d'angine de poitrine, la fonction endothéliale mesurée à l'artère brachiale serait inversement liée à la sévérité de la maladie coronarienne athérosclérotique (degré d'obstruction et nombre de vaisseaux atteints) [150].

Une étude récente a démontré, chez les sujets hautement à risque de subir un événement cardiovasculaire, que ceux ayant une fonction endothéliale plus faible ($< 2\%$) ont présenté davantage d'événements que ceux avec une fonction endothéliale plus importante (entre 2.1 et 6.3% de dilatation) [159]. Dans le même sens, chez une population symptomatique suivie pendant 5 ans, on a remarqué que le nombre d'événements cardiovasculaires (décès, infarctus du myocarde, angioplastie, pontages) était plus élevé chez les sujets avec une

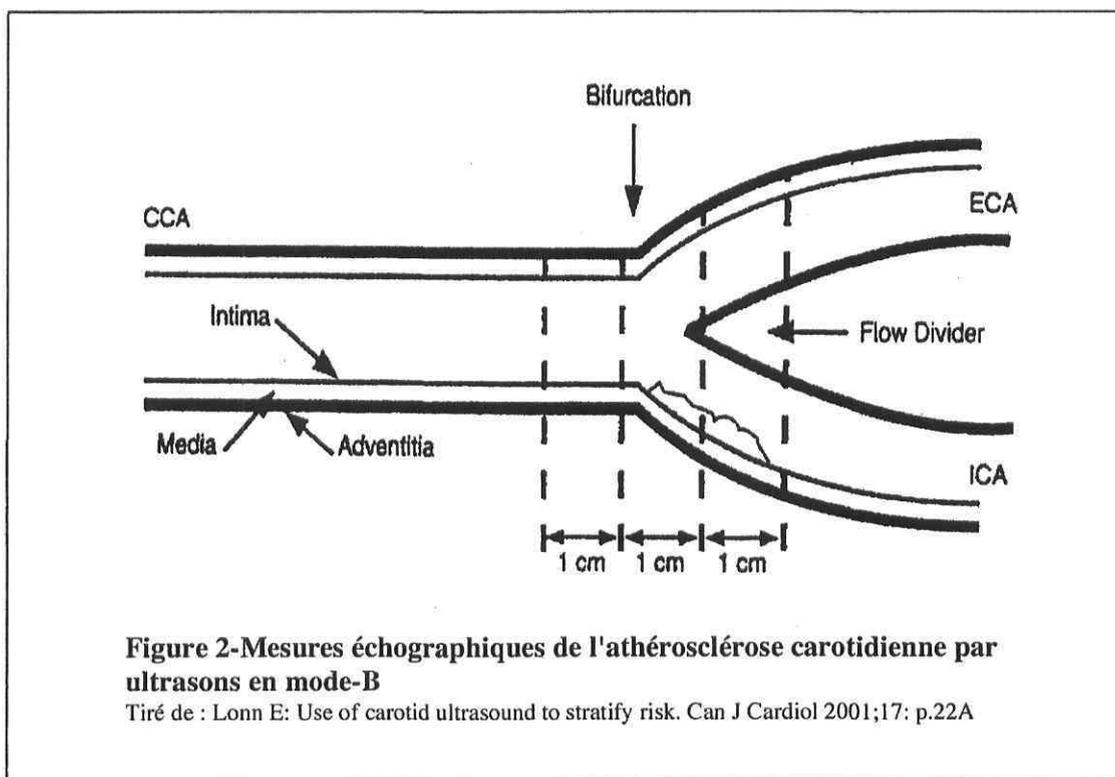
fonction endothéliale initiale réduite [160]. Ces études suggèrent que l'atteinte de la fonction endothéliale permettrait la prédiction d'événements coronariens [159, 160].

1.16 Épaisseur de l'intima-média carotidienne

L'épaisseur de l'I-M carotidienne peut être mesurée avec l'échographie des carotides en mode B. L'évaluation, par ultrasons, fournit une image directe des parois artérielles, contrairement aux artériographies qui informent sur le degré d'obstruction de la lumière artérielle [161]. L'échographie des carotides en mode B est un examen non-invasif, sécuritaire, peu coûteux, pouvant être répété sans danger pour l'individu qui le subit, permettant d'observer la progression ou la régression de l'athérosclérose carotidienne à travers le temps [161-163].

1.16.1 La technique d'imagerie

Une artère normale est composée de deux parois vasculaires parallèles et échogènes et ne démontrant pas d'accumulation lipidique marquée par la présence d'une plaque ou d'un épaissement des parois [164, 165]. Celles-ci, clairement observables lors de l'échographie, sont alors nommées les lignes I (intima) et M (média), formant le complexe I-M [164, 165]. Le complexe se mesure de la surface luminale de la média à la surface luminale de l'intima et correspond à l'épaisseur des deux composantes vasculaires [166]. La technique d'imagerie des carotides sert à évaluer l'étendue anatomique des lésions athérosclérotiques, permettant l'analyse des deux artères carotidiennes en six points. En effet, pour une artère, la mesure de l'épaisseur des parois sera prise au niveau du tronc commun, du bulbe carotidien et de la carotide interne, à chaque fois à la paroi proximale et distale. L'I-M de la carotide commune et de l'interne sera calculée à partir du bulbe carotidien, sur une distance d'au moins un centimètre. Le bulbe carotidien sera mesuré au site de bifurcation, sur la même distance, à partir de la division du flot (*flow divider*), là où débutent les carotides internes et externes [161] (Figure 2).



L'épaisseur de l'intima-média carotidienne chez l'adulte apparemment sain s'étendrait le plus souvent aux alentours de 0.6 mm [161]. Non loin de ce résultat, une étude de Veller et al. [167], ayant évalué 140 sujets asymptomatiques et présumés sains, âgés de 3 mois à 77 ans, a obtenu une épaisseur de l'I-M carotidienne de 0.63 mm en moyenne. Dans cette étude, les chercheurs soulignent la corrélation entre l'épaisseur de l'I-M carotidienne et la présence de plaque dans au moins une des quatre bifurcations examinées lors de l'évaluation ultrasonographique des carotides communes. En effet, chez les sujets sans plaque, le complexe I-M était de 0.55 mm d'épaisseur en moyenne, tandis que cette mesure s'élevait à environ 0.77 mm chez les gens avec une (des) plaque(s). Finalement, les auteurs ont observé que 95,5 % des sujets ayant des I-M carotidiennes de plus de 0.8 mm d'épaisseur avaient une ou des plaques au niveau des ces artères ou des artères fémorales communes [167]. Puis, le groupe de Visonà a également testé des adultes en bonne santé, lesquels ont obtenu une épaisseur moyenne de 0,87 mm [168], le résultat s'affichant comme étant plus élevé que ceux précédemment discutés. En général, nous retenons que certains résultats chez le sujet sain sont disparates, mais que des valeurs excédant 1 millimètre

d'épaisseur sont considérées comme anormales, spécifiquement et positivement prédictives de la MCAS [168, 169].

1.16.2 Intima-média carotidienne et MCAS

L'athérosclérose carotidienne, tout comme l'athérosclérose coronarienne, serait composée de dépôts de cholestérol, de débris nécrotiques, de calcifications, de tissu conjonctif et d'une certaine activité inflammatoire [170]. On affirme également que le processus d'épaississement de l'I-M carotidienne serait le même que celui concernant la formation de plaque et représente les premiers changements athérosclérotiques [170]. Puis, il a été démontré que la sévérité de l'athérosclérose carotidienne serait reliée aux facteurs de risque comme l'âge, l'histoire de tabagisme, les concentrations de LDL sanguin [167, 171, 172] et l'hypertension artérielle [163], tous des facteurs de risque de la MCAS. Plus récemment, on a dressé une parenthèse concernant le facteur de l'âge. Contrairement à ce que certains affirment, le phénomène d'épaississement de l'I-M pourrait refléter le processus de vieillissement physiologique (et non pas l'athérosclérose) causant un épaissement diffus de l'intima, et ce spécialement chez l'individu très âgé [173]. Donc, l'âge à lui seul n'expliquerait pas nécessairement la formation pathologique de plaque chez le sujet apparemment sain [173].

Un complexe I-M épaissi serait relié à une progression plus rapide des lésions athérosclérotiques et avec des plaques se trouvant aux bifurcations des artères carotidiennes [167, 174]. D'ailleurs, les plaques athéromateuses au niveau carotidien sont bien reconnues pour être la source d'embolies cérébrales, causant un AVC [162]. Une embolie peut résulter d'un thrombus qui, faisant partie de la plaque ou s'étant formé à la surface, se détache et se transporte au cerveau [162].

Chez le sujet apparemment sain (sans histoire connue de maladie cardiovasculaire), la somme des épaisseurs des parois analysées représenterait un indicateur sensible de la maladie coronarienne et permettrait d'identifier les individus à risque de développer la maladie [167, 168]. Le phénomène d'épaississement serait directement associé à un risque plus important de souffrir d'un événement de nature cardiovasculaire (infarctus), ou

cérébrovasculaire (AVC) [145, 175]. Chez le malade coronarien ou la personne suspectée d'avoir la maladie, l'épaisseur de l'I-M carotidienne serait significativement plus élevée que chez le sujet contrôle, le phénomène s'observant chez les patients avec un statut athérosclérotique avancé (lésion d'une ou plus des artères coronaires $\geq 90\%$) [158, 168].

1.17 Conclusions sur l'imagerie fonctionnelle et anatomique

Nous savons qu'une fonction endothéliale induite par hyperémie réactive réduite et qu'un épaissement de l'intima-média carotidienne sont associées à la présence de MCAS. Cependant, les valeurs retrouvées chez l'individu en bonne santé sont moins clairement établies, les valeurs considérées comme normales étant inconnues dans notre centre de recherche. Dans la constitution d'un groupe d'individus d'âge mûr mais sans évidence de MCAS, nous avons trouvé pertinent d'évaluer la condition vasculaire fonctionnelle et anatomique de ce groupe contrôle, afin d'amasser des valeurs de référence pour l'évaluation des sujets malades.

Ce second chapitre de nos recherches s'ajoute et vient à la fois compléter notre investigation sur le portrait inflammatoire du sujet sain et d'âge mûr. En effet, en plus d'étudier le système inflammatoire à l'exercice maximal chez ces individus normaux, nous contribuons aux connaissances portant sur la condition vasculaire de cette population moins étudiée.

CHAPITRE 2
ARTICLE SCIENTIFIQUE

Résumé en français

Objectifs: Évaluer l'impact d'un exercice physique maximal sur les marqueurs et médiateurs sériques inflammatoires: protéine C-réactive (CRP), interleukine-6 (IL-6), interleukine-18 (IL-18) et myeloperoxydase (MPO), chez des sujets sains d'âge mûr.

Méthodes: Dans le cadre d'une test d'effort sur tapis roulant (Bruce modifié), quatre prélèvements sanguins (60 et 5 minutes pré-exercice, puis 1 et 45 minutes post-exercice) ont été effectués. Tous les tests furent complétés en avant-midi et à jeun.

Résultats: Douze hommes (âge moyen 64 ± 9 ans) ont complété un test d'effort maximal limité par les symptômes, sans évidence d'ischémie myocardique à l'électrocardiogramme, ni symptôme. Tous les marqueurs inflammatoires ont augmenté significativement lors de l'exercice (CRP: $p < 0,0001$), (IL-6: $p < 0,001$), (IL-18: $p = 0,002$) et (MPO: $p = 0,01$).

Conclusion: Chez les sujets d'âge mûr en bonne santé et sans évidence d'ischémie myocardique, l'exercice physique maximal modifie transitoirement les marqueurs sanguins CRP, IL-6, IL-18 et MPO, suggérant une réponse physiologique de l'organisme face à un exercice bref et intense.

**EFFECT OF BRIEF AND INTENSE EXERCISE ON MARKERS AND
MEDIATORS OF INFLAMMATION IN ASYMPTOMATIC MEN WITHOUT
EVIDENCE OF MYOCARDIAL ISCHEMIA**

Authors:

Audrey Marcoux B.Sc., Martin Noël M.Sc., Luce Boyer RN., Serge Simard M.Sc., Fernand Bertrand B.Sc., Peter Bogaty M.D.

Affiliation:

Institut Universitaire de Cardiologie et de Pneumologie, Hôpital Laval, Université Laval
Québec, Canada.

Address for correspondence:

Dr Peter Bogaty
Hôpital Laval
Centre de recherche clinique
2725 chemin Ste-Foy
Sainte-Foy, Québec
G1V 4G5
Canada

Tél.: (418) 656-8711 #5537
Fax.: (418) 656-4869
peter.Bogaty@med.ulaval.ca

Abstract

Background: Serum concentrations of some inflammatory markers are increased in subjects with coronary disease. Prolonged, exhaustive exercise (marathon), as well as moderately intense training also stimulate inflammatory markers. However, the effect of acute exercise on inflammatory markers in healthy older subjects is not well established.

Purpose: To evaluate the impact of acute exercise on the inflammatory response, in healthy older subjects, without evidence of myocardial ischemia.

Methods: Twelve healthy men (aged 64 ± 9 y; mean \pm SD), without evidence of cardiovascular disease or active inflammatory condition, underwent a symptom-limited modified Bruce protocol electrocardiographic treadmill exercise test. Blood sampling of C-reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL-6), interleukin-18 (IL-18), and myeloperoxidase (MPO) was performed at 4 time-points: 1 hour and 5 min before exercise, immediately after exercise and 45 min later.

Results: The workload achieved was 12.7 ± 1.3 METS and maximum heart rate was 158 ± 11 beats/min (all values are mean \pm SEM). No subject showed evidence of myocardial ischemia. CRP values at the 4 time points were 1.74 ± 0.39 , 1.71 ± 0.4 , 1.95 ± 0.43 and 1.58 ± 0.35 ($p < 0.0001$). IL-6 values were 2.31 ± 0.56 , 1.74 ± 0.16 , 2.97 ± 0.53 and 2.26 ± 0.22 ($p < 0.001$). IL-18 values were 60.51 ± 5.13 , 55.19 ± 5.74 , 62.32 ± 6.64 and 51.79 ± 4.22 ($p = 0.002$). MPO values were 0.39 ± 0.14 , 0.55 ± 0.19 , 1.32 ± 0.25 and 0.6 ± 0.22 ($p = 0.01$) (values: mean \pm SEM). **Conclusion:** Brief and intense physical exercise had a significant, immediate, and transient effect on CRP, IL-6, IL-18 and MPO, in apparently healthy older subjects. These findings suggest that an acute increase in blood inflammatory markers in response to exercise is physiological.

Introduction

Strenuous exercise stimulates an acute and temporary elevation in inflammatory markers in well-trained youthful subjects [1-3], while the effect of exercise on inflammatory markers in patients with coronary artery disease is yet unclear. As well, the impact of brief exertion on the blood markers and mediators of inflammation in healthy older subjects has been scarcely studied and remains uncertain [4, 5]. To the best of our knowledge, a few findings are available on CRP [3, 6], IL-6 [1, 2], IL-18 [7] and MPO [8-10] and acute exercise. However, they have been mostly obtained in groups that varied in terms of age and health status, and performed exercise according to different protocols. The present study, assessing the impact of brief and intense exercise on the inflammatory response of healthy older men, may allow better understanding of exercise physiology and is necessary to subsequently better evaluate the effect of exercise on inflammatory markers in patients with coronary artery disease (CAD) who already tend to have an enhanced resting baseline inflammatory status.

Methods

Selection criteria

Twelve healthy male subjects, at least 50 years of age, without a history or symptoms of coronary artery disease, were recruited for this study. These subjects were selected from the database of a cardiovascular primary prevention fitness center. They had to have a normal electrocardiogram (ECG) with sinus rhythm, no ECG evidence of left ventricular hypertrophy and an isoelectric ST segment at rest. They had to have performed a maximal exercise test of at least 10 METS in the previous 2 years that was clinically and electrically negative for the presence of myocardial ischemia. Following a first phone contact, interested subjects were questioned in detail about their medical history, medications, cardiovascular risk factors and inflammatory status. Exclusion criteria included diabetes mellitus, a history or symptoms suggestive of cardiovascular disease (except for arterial hypertension which was permitted) and presence of any significant exercise-limiting musculo-skeletal problem. The final exclusion criteria was the presence of any significant inflammatory condition within the previous 3 months including any systemic disease that

could modulate the inflammatory response. The study was approved by the hospital ethics committee and all subjects gave written informed consent.

Exercise protocol

Subjects underwent a symptom-limited exercise treadmill test using the modified Bruce protocol. All tests were performed in midmorning, in the fasting state. Antihypertensive drugs were stopped 48 hours before the test. Tests were performed on a Q65 treadmill linked to a Q4000 monitor. The ECG was continuously monitored and a 12-lead ECG was taken in the supine and standing positions and then every minute during exercise and recovery periods. Arterial blood pressure was taken with a mercury sphygmomanometer every 3 minutes (30 seconds before the end of each stage) until peak exercise and then every 2-3 minutes during recovery. A modified Borg scale of perceived exertion, graded from 0 to 10, was used to quantify the level of fatigue and/or dyspnea. Criteria for terminating exercise were: subjects' desire to stop, incapacity to sustain effort, a drop in the systolic arterial blood pressure ≥ 10 mm Hg, significant arrhythmias or signs of reduced perfusion.

Blood analysis

An intravenous 18-gauge catheter was inserted in the left forearm. This catheter was used both for blood taking and for a saline infusion. Blood was drawn 4 times: 1) 60 minutes before the beginning of the exercise, after a 15 minutes rest in the supine position; 2) 5 minutes before the beginning of the exercise, in the sitting position; 3) within 30 seconds of stopping exercise in the sitting position; 4) 45 minutes after the end of the exercise in the supine position. An infusion of 1000 cc saline 0.9 % with 30 milliequivalents KCL was begun after the first blood draw and continued until 15 minutes after the end of exercise at a rate of 7 mg/kg/hour. The purpose of this specific infusion was to match this protocol with one that had been performed in patients with coronary artery disease. Blood was collected in appropriate tubes and immediately placed on ice. Every sample was centrifuged, within 30 minutes of draw, at 3000 rpm for 15 minutes, aliquoted and frozen at -85° until analysis. Baseline measurements of lipids, glycemia, creatinine and serial measurements of serum CRP and IL-6 were made in the biochemistry laboratory of Laval Hospital. CRP was

measured with the CardioPhase hsCRP reagent from Dade Behring (interassay reproducibility, 3.8-4.1%, sensitivity 0.18 mg/L) using a BN ProsPec nephelometer (Dade Behring, Marburg, Germany). IL-6 was measured with the ELISA kit of R&D Systems Inc. (Minneapolis, MN, USA) (sensitivity 0.70 pg/mL). Serial IL-18 and MPO were measured in the vascular immunology/inflammation laboratory of Dr Janos Filep, Maisonneuve-Rosemont Hospital Research Center (Montreal). Serum MPO was measured with ELISA (Calbiochem) (assay detection limit of 1.5 $\mu\text{g/L}$ and intra-assay variability <7 %). MPO content was measured in accordance with the method of Krawisz et al. [11].

Serial blood myoglobin and creatine kinase (CK) were measured by electrochemiluminescence immunoassay and UV kinetic test respectively, with the Modular System of Roche Diagnostics (Indianapolis, USA).

Statistical analysis

Clinical and exercise features are reported as mean \pm SD, while inflammatory markers and mediators fluctuations are means \pm SEM. For each outcome variable, the mixed model ANOVA was used to analyse 2 experimental factors, one associated with the subjects (random effect), and the other linked to the four time points of measurement (fixed effect). This level was analysed as a repeated-measures factor. An unstructured covariance structure among the subjects' serial measurements was introduced. For variables, the graphical analyses of residuals with predicted values revealed a relationship between the variances of the serial measurements and the means for these variables. To estimate the form of the required transformation associated with these variables, a regression approach was performed between the logarithm of the standard deviations and the logarithm of the means from different conditions. Logarithm transformation was appropriate and results were expressed with the log-transformed values. For CK and myoglobin values, the same statistical approach without transformation was used with only two time levels. Tukey's multiple comparison technique was applied *posthoc* to the ANOVA. Univariate normality assumptions were verified with the Shapiro-Wilk test. Brown and Forsythe's variation of Levene's test statistics was used to verify the homogeneity of variances. Multivariate normality was verified with Mardia tests. Relationships between different parameters were

done using the Pearson's correlation coefficient. The results were considered significant with p -values < 0.05 . Data were analyzed using the statistical package program SAS v9.1.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC).

Results

Clinical features

Mean age of the study group was 64 ± 9 years. They weighed 85.4 ± 16.4 kg, measured 1.7 ± 0.1 m in height and their body mass index was 29.0 ± 4.7 kg/m². Waist/hip ratio was 0.97 ± 0.06 . There were no current smokers. The only inflammatory condition apparently present was chronic gingivitis in one subject who was not excluded because his condition had been stable for several years. About half the subjects were taking antihypertensive or lipid-lowering medications, while three were taking Aspirin. Clinical characteristics are detailed in Table 1.

Exercise test

All subjects performed a maximal exercise test (Bruce modified treadmill protocol), to a rated perceived exertion of at least 8/10. As assumed, all exercise tests were clinically and electrically negative. General fatigue and dyspnea were always the reasons to stop exercise. The workload achieved was 12.7 ± 1.3 METS. Maximum heart rate was 158 ± 11 beats/min and maximal systolic blood pressure was 192 ± 23 mmHg, giving a peak rate-pressure product of $30\,447 \pm 5\,153$.

Inflammatory response

CRP, IL-6, IL-18 and MPO serum concentrations were analyzed at 4 time points, 1 hour and 5 minutes before exercise and immediately and 45 min after exercise. Results, presented in Table 2, indicate that CRP, IL-6 and IL-18 serum concentrations all decreased from an hour before to 5 minutes before exercise, while MPO increased slightly, though none of them changed significantly. All 4 markers and mediators increased significantly and immediately after exercise. Figures 3 (A to D) demonstrate individual concentrations of the four markers, 5 minutes before and immediately after exercise. These individual fluctuations show that CRP serum concentrations increased in all subjects with exercise (p

< 0.0001 for the group). IL-6 serum concentrations increased in all but one subject ($p < 0.02$), while IL-18 and MPO serum concentrations increased in all but 2 subjects with exercise ($p < 0.04$ for both). However, these elevations in blood inflammatory markers were transient; all of them decreased between the end of exercise and the last blood sampling, 45 minutes post-exercise. Notably, all markers but MPO had returned to smaller values than their very first concentrations. Nevertheless, CRP was the only inflammatory marker to show a significant decrease from an hour before to 45 minutes after exercise ($p = 0.0001$). Figures 4 (A to D) illustrate group fluctuations of the four inflammatory markers through the 4 time-points.

Correlation coefficients were computed among all markers values and fluctuations due to exercise, including all 4 blood sampling times. Except for CRP and IL-6, 45 minutes post-exercise, which showed a weak correlation ($r=0.60$ and $p=0.04$), none of the inflammatory markers, at any time, correlated. Correlations of changes in blood inflammatory markers were also explored. We considered these different times and means of comparisons in these analyses: 1) -5 minutes and 1 minute, 2) the mean of -60 and -5 minutes with 1 minute post-exercise and 3) the means of -60 and -5 minutes (pre) with the means of 1 and 45 minutes (post-exercise). In all three scenarios, there were no significant correlations.

There were no significant changes in serum myoglobin and serum CK from 5 minutes before to 45 minutes after exercise.

Discussion

Markers of inflammation at exercise

Brief and intense exertion caused significant, immediate but transient elevations in CRP, IL-6, IL-18 and MPO blood concentrations in an apparently healthy, older male group. In contrast to another study in patients and subjects (control group), similar in terms of age and exercise protocol [4], we have found a significant increase in serum CRP immediately after maximal exercise. The wide range of CRP responses to the different types of exercise in which diverse populations are tested makes it difficult to clearly define 'normal' CRP kinetics following exercise. However, concordant with results of a similar study in terms of

type of exercise and subjects tested (controls) [5], we found a significant increase in IL-6 immediately after exercise. It has been suggested that increases in cytokines like IL-6 are related to muscle injury occurring with strenuous, albeit brief, exercise [2, 12]. We found no evidence of muscle injury as evaluated by the measurements of CK and myoglobin. However, because we did not measure these markers of muscle injury late after exercise, we cannot wholly exclude this possibility.

Moreover, to the best of our knowledge, this is the first study to focus on the impact of brief maximal exercise, in apparently healthy older adults on IL-18 and MPO levels. In contrast to the decreasing IL-18 serum concentrations observed in young athletes following strenuous marathon cycling [7], we found that IL-18 actually increased significantly after brief and intense exercise. Previous studies on the effect of exercise on MPO have essentially involved young, athletic subjects and have given discordant results perhaps at least partly due to the type of exercise [8-10, 13].

Our observations appear to contribute a novel finding to the understanding of the relationship between exercise and the expression in the blood of inflammatory markers. The pattern of change, an immediate increase with exercise, followed within less than an hour by a decrease in the inflammatory markers studied, was fairly strong and consistent, especially for CRP (increase with exercise in 12/12 subjects) and IL-6 (increase in 11/12 subjects). This pattern, found in apparently normal and older subjects, suggests a physiological response to brief intense exercise. Interestingly, with respect to CRP, the most contemporaneously studied of the 4 inflammatory markers we examined, the rapidity of its increase with exercise raises the possibility of another pathway responsible for its release into the blood than that generally considered, its secretion by liver cells under IL-6 stimulation. This is also supported by the lack of correlation of CRP increases with IL-6 increases. We speculate that the mechanism for the synthesis and release of CRP, in this context could be directly by endothelial cells lining blood vessels.

Study limitations

The small size of the group may limit the generalization of our observations. Even though our subjects were asymptomatic and showed no evidence of myocardial ischemia, the fact that these older subjects had been recruited in a cardiac prevention fitness center and that some of them did have risk factors for coronary artery disease, means that the presence of latent coronary artery disease cannot be excluded. On the other hand, we believe these subjects were adequately representative of older apparently healthy individuals and constitute a satisfactory group of 'normal controls'.

Conclusion

In healthy older males with good exercise capacity, showing no evidence of myocardial ischemia, maximal exercise testing immediately and transiently increased the inflammatory blood markers CRP, IL-6, IL-18 and MPO. Concomitant measurements of myoglobin and CK suggest but do not prove that the inflammatory response observed here was not the result of exercise-induced muscle injury. Our findings suggest that activation of the inflammatory system following maximal exercise may be a physiological response. This work proposes avenues for future research into the behavior of inflammatory markers in normal subjects based on age and level of physical fitness as well as in patients with established atherosclerosis and provides insight into the origins and mechanisms of release of these intriguing markers. Such study would further define the implications of inflammation in exercise, health, and disease.

| TABLE 1. Clinical characteristics of the group | |
|---|-----------|
| Characteristics | n=12 |
| Age | 64±9 |
| Hypertention, n (%) | 5 (41.7) |
| Hypercholesterolemia, n (%) | 4 (33.3) |
| Current smoker, n (%) | 0 (0) |
| Ex-smoker, n (%) | 8 (66.7) |
| Body mass index, kg/m ² | 29.0±4.7 |
| Waist circumference (cm) | 97.7±13.6 |
| Waist/hip ratio | 0.97±0.06 |
| Total-C, mmol/L | 4.8±0.8 |
| LDL-C, mmol/L | 2.7±0.6 |
| TG, mmol/L | 1.9±0.4 |
| HDL-C, mmol/L | 1.2±0.2 |
| Blood glucose, mmol/L | 5±0.6 |
| β-Blocker, n (%) | 1 (8.3) |
| ARA II | 2 (16.7) |
| Lipid-lowering agent, n (%) | 4 (33.3) |
| C denotes cholesterol; ARA II denotes | |
| angiotensin II receptor antagonist. | |
| Values are mean±SD when appropriate | |

| TABLE 2. Values of CRP, IL-6, IL-18 and MPO at all time points | | | | |
|---|----------------|---------------|---------------|-----------------|
| | -60 min | -5 min | +1 min | + 45 min |
| CRP (mg/L) | 1.74±0.39 | 1.71±0.40 | 1.95±0.43 | 1.58±0.35 |
| IL-6 (pg/mL) | 2.31±0.56 | 1.74±0.16 | 2.97±0.53 | 2.26±0.22 |
| IL-18 (pg/mL) | 60.51±5.13 | 55.19±5.74 | 62.32±6.64 | 51.79±4.22 |
| MPO (ng/mL) | 0.39±0.14 | 0.55±0.19 | 1.32±0.25 | 0.60±0.22 |
| Values of all markers are mean±SEM | | | | |

Figures legend

Figure 3

Figure Title: Individual CRP, IL-6, IL-18 and MPO concentrations before and immediately after maximal exercise, in asymptomatic individuals of mature age

Figure 3-A legend: Individual serum CRP concentrations five minutes before and immediately after maximal physical exertion.
Values at each side of the graph are means.
CRP: C-Reactive protein

Figure 3-B legend: Individual serum IL-6 concentrations five minutes before and immediately after maximal physical exertion.
Values at each side of the graph are means.
IL-6: Interleukin-6

Figure 3-C legend: Individual serum IL-18 concentrations five minutes before and immediately after maximal physical exertion.
Values at each side of the graph are means.
IL-18: Interleukin-18

Figure 3-D legend: Individual plasma MPO concentrations five minutes before and immediately after maximal physical exertion.
Values at each side of the graph are means.
MPO: Myeloperoxydase

Figure 4

Figure Title: Impact of maximal exercise on CRP, IL-6, IL-18 and MPO concentrations in asymptomatic individuals of mature age

Figure 4-A legend: Modification of serum CRP concentrations through time in asymptomatic individuals free from myocardial ischemia, in the context of maximal physical exertion. Data are expressed as mean \pm SEM.

CRP : C-Reactive protein

Figure 4-B legend: Modification of serum IL-6 concentrations through time in asymptomatic individuals free from myocardial ischemia, in the context of maximal physical exertion. Data are expressed as mean \pm SEM.

IL-6: Interleukin-6

Figure 4-C legend: Modification of serum IL-18 concentrations through time in asymptomatic individuals free from myocardial ischemia, in the context of maximal physical exertion. Data are expressed as mean \pm SEM.

IL-18: Interleukin-18

Figure 4-D legend: Modification of plasma MPO concentrations through time in asymptomatic individuals free from myocardial ischemia, in the context of maximal physical exertion. Data are expressed as mean \pm SEM.

MPO: Myeloperoxidase

Figure 3-A

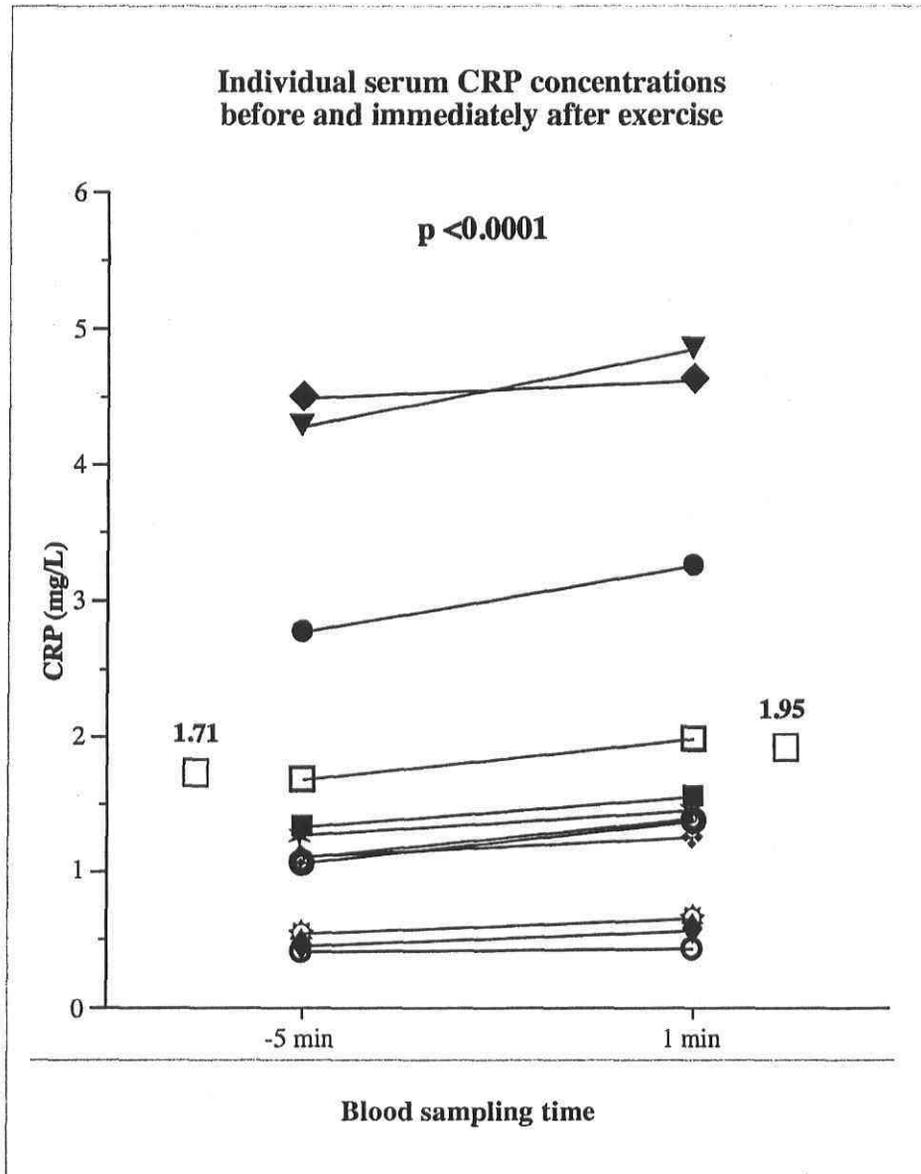


Figure 3-B

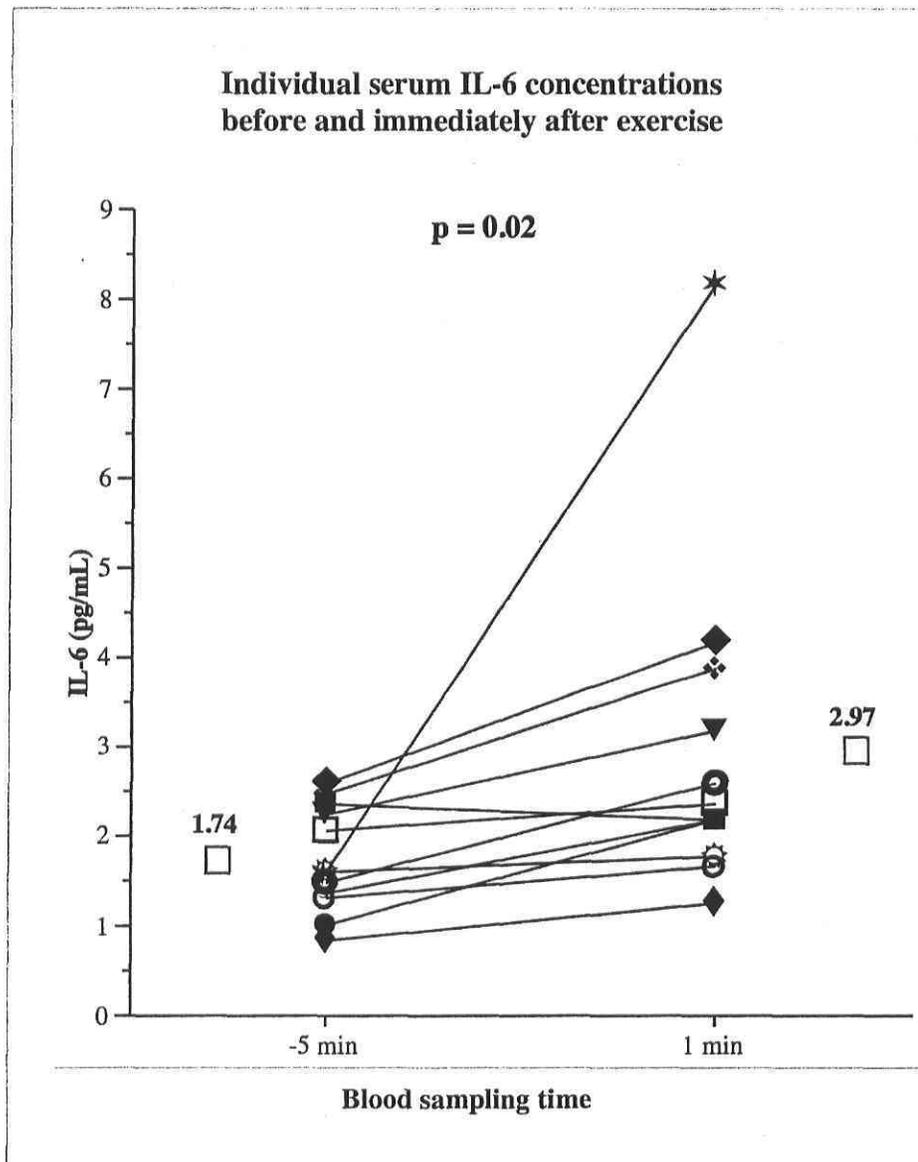


Figure 3-C

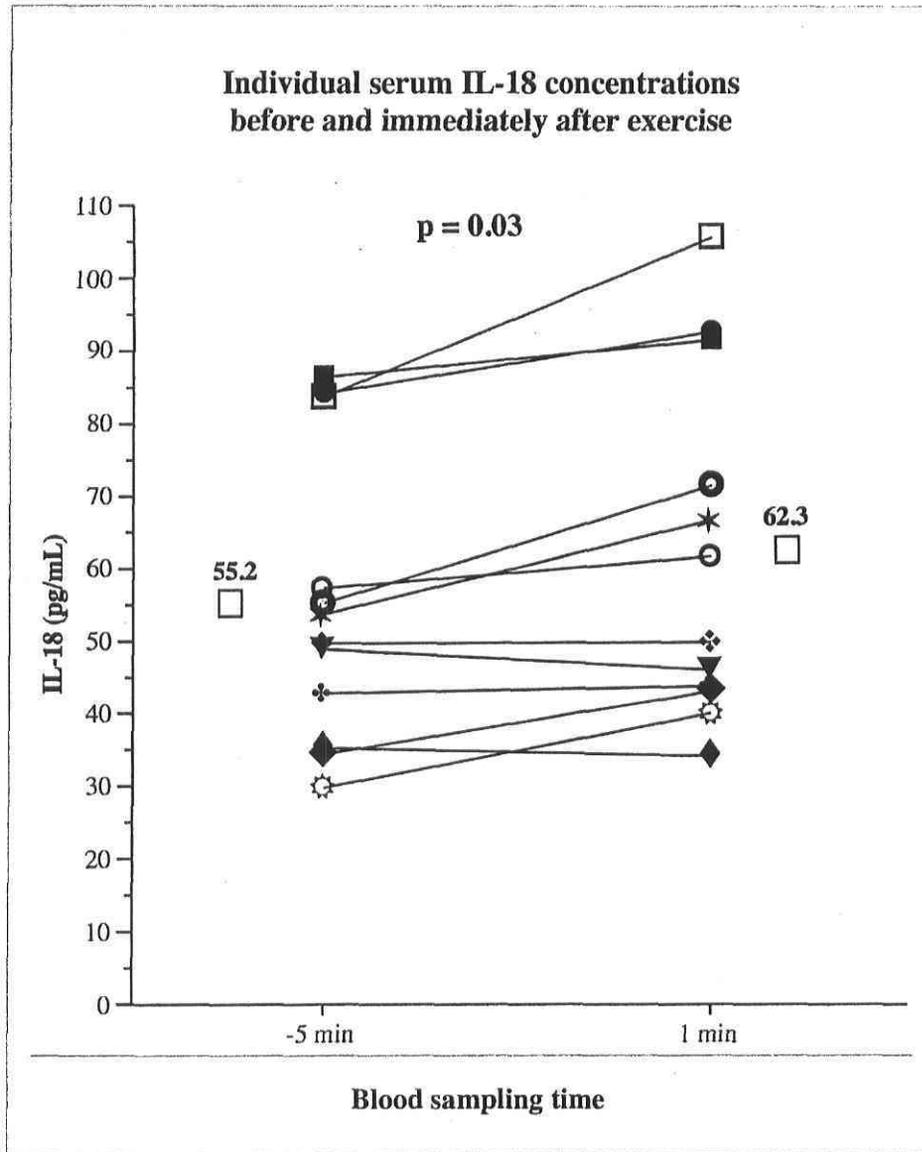


Figure 3-D

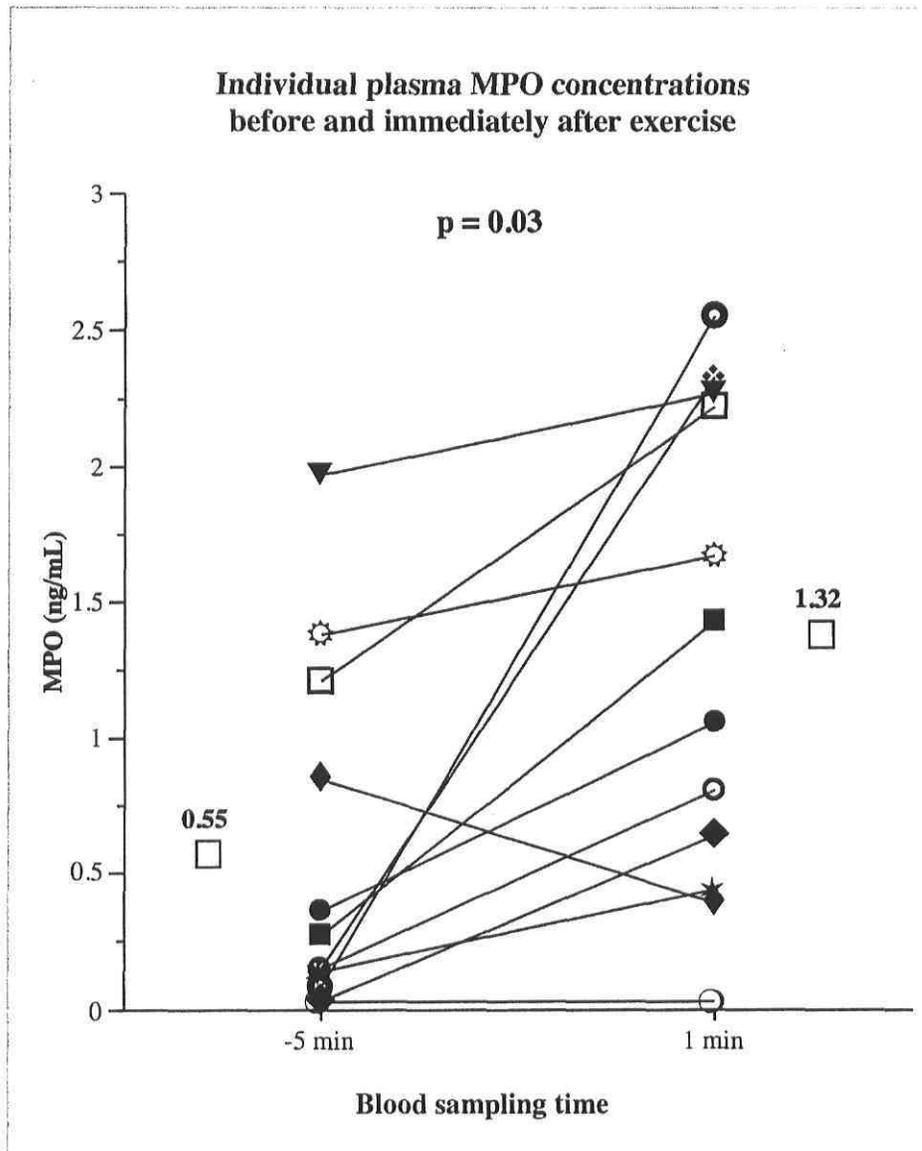


Figure 4-A

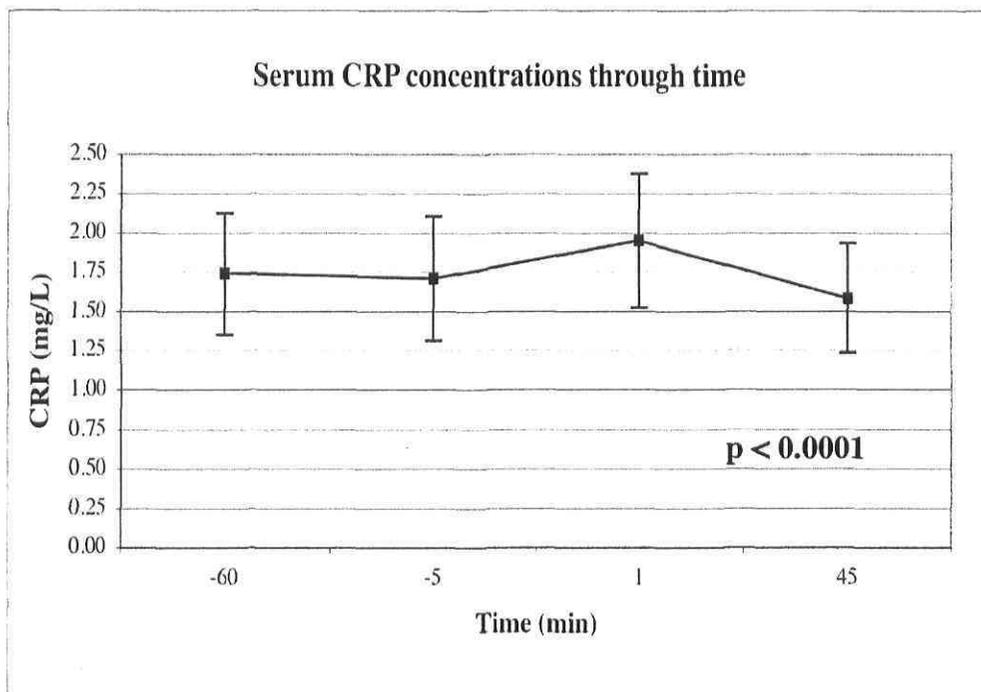


Figure 4-B

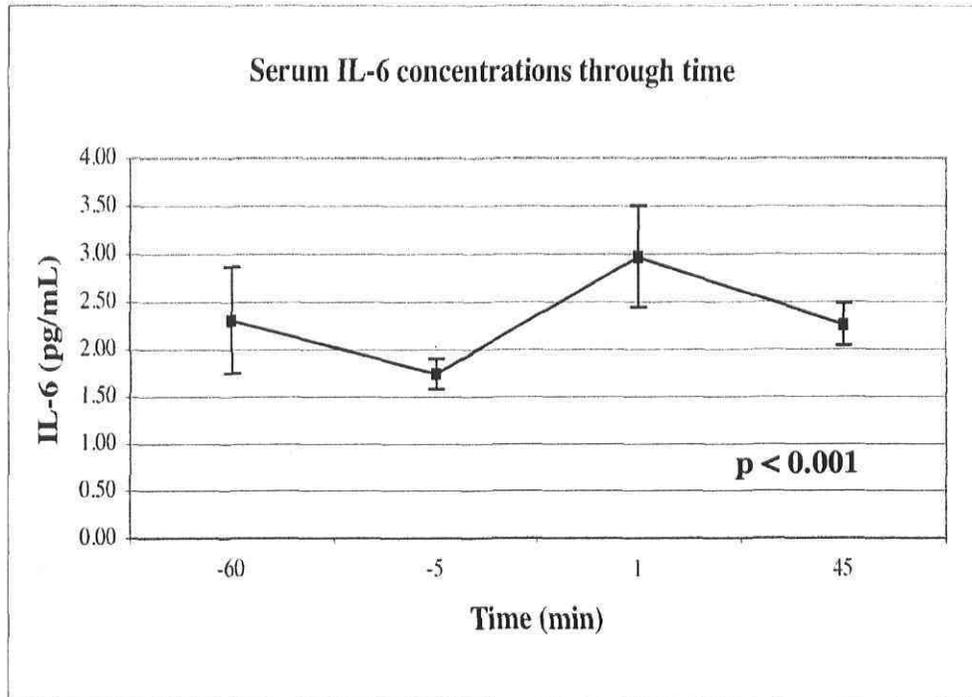


Figure 4-C

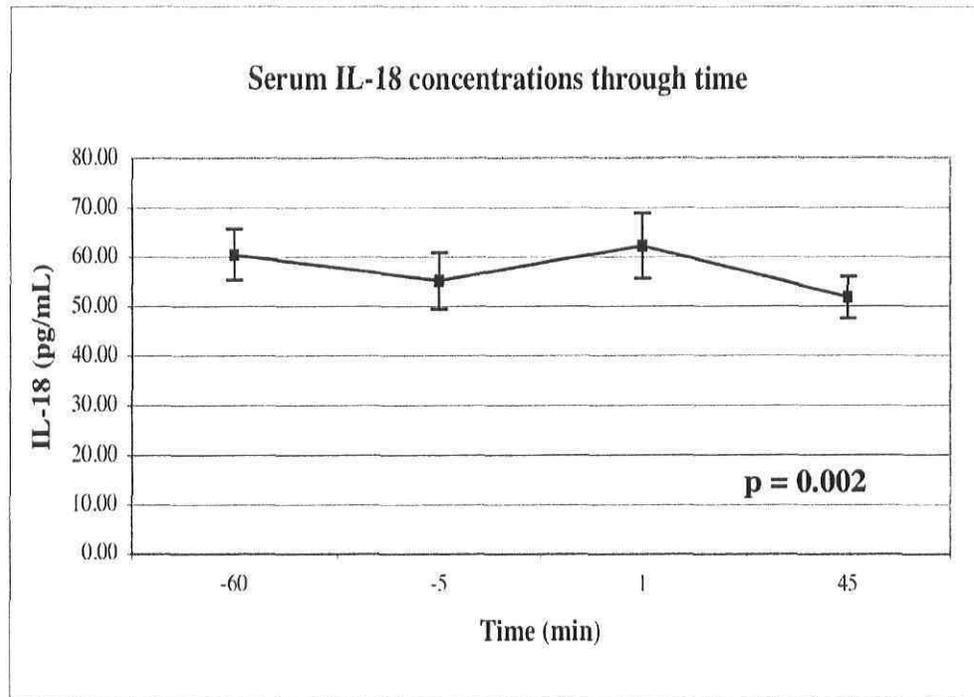
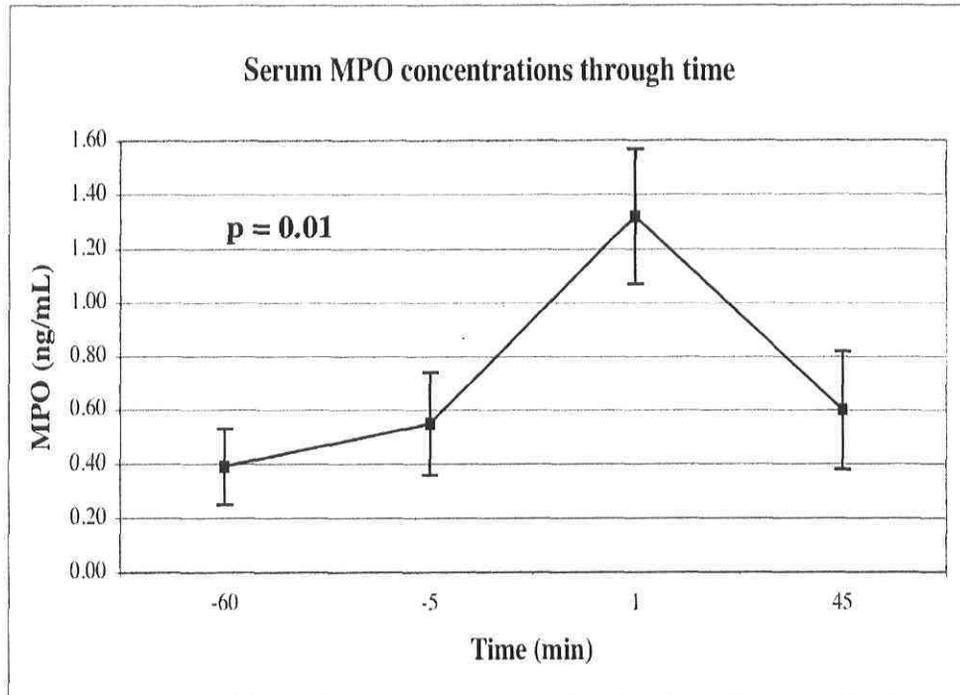


Figure 4-D



References

1. Ostrowski, K., et al., *Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans*. J Physiol, 1999. **515** (Pt 1): p. 287-91.
2. Ostrowski, K., et al., *A trauma-like elevation of plasma cytokines in humans in response to treadmill running*. J Physiol, 1998. **513** (Pt 3): p. 889-94.
3. Weight, L.M., D. Alexander, and P. Jacobs, *Strenuous exercise: analogous to the acute-phase response?* Clin Sci (Lond), 1991. **81**(5): p. 677-83.
4. Gaspardone, A., et al., *Exercise induced myocardial ischaemia does not cause increase in C-reactive protein concentration*. Heart, 2000. **84**(6): p. 668A-69.
5. Kinugawa, T., et al., *Interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha levels increase in response to maximal exercise in patients with chronic heart failure*. Int J Cardiol, 2003. **87**(1): p. 83-90.
6. Scharhag, J., et al., *Does prolonged cycling of moderate intensity affect immune cell function?* Br J Sports Med, 2005. **39**(3): p. 171-7; discussion 171-7.
7. Neumayr, G., et al., *The impact of prolonged strenuous endurance exercise on interleukin 18 and interleukin 18 binding protein in recreational cyclists*. Int J Sports Med, 2005. **26**(10): p. 836-40.
8. Peake, J., et al., *Changes in neutrophil surface receptor expression, degranulation, and respiratory burst activity after moderate- and high-intensity exercise*. J Appl Physiol, 2004. **97**(2): p. 612-8.
9. Morozov, V.I., et al., *Effect of exercise to exhaustion on myeloperoxidase and lysozyme release from blood neutrophils*. Eur J Appl Physiol, 2003. **89**(3-4): p. 257-62.
10. van Eeden, S.F., et al., *Expression of the cell adhesion molecules on leukocytes that demarginate during acute maximal exercise*. J Appl Physiol, 1999. **86**(3): p. 970-6.
11. Krawisz, J.E., P. Sharon, and W.F. Stenson, *Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. Assessment of inflammation in rat and hamster models*. Gastroenterology, 1984. **87**(6): p. 1344-50.
12. Bruunsgaard, H., et al., *Exercise-induced increase in serum interleukin-6 in humans is related to muscle damage*. J Physiol, 1997. **499** (Pt 3): p. 833-41.
13. Quindry, J.C., et al., *The effects of acute exercise on neutrophils and plasma oxidative stress*. Med Sci Sports Exerc, 2003. **35**(7): p. 1139-45.

CHAPITRE 3
MESURES ÉCHOGRAPHIQUES VASCULAIRES

Évaluation de la fonction endothéliale

3.1 Méthodologies des mesures de fonction endothéliale

Onze des douze sujets ayant participé à la première partie de l'étude portant sur l'inflammation et l'exercice (voir Article) ont consenti aux évaluations échographiques vasculaires. Pour chacun des tests échographiques, les résultats d'un sujet ont été rejetés, du au manque d'échogénéité des images enregistrées. C'est pourquoi nous avons considérés les résultats de 10 sujets pour chaque test. Ces mesures ont été recueillies lors d'une seconde visite au centre de recherche, de une à trois semaines environ après l'épreuve d'effort sur tapis roulant. Les mesures de la fonction endothéliale de l'artère brachiale ont été prises juste avant celles de l'épaisseur de l'I-M carotidienne. Les sujets ne devaient pas avoir consommé de caféine ni d'alcool ou avoir pris leur médication vasoactive (antihypertenseurs pour certains) dans les 48 heures précédant le test. Les sujets étaient couchés, dans une salle calme, où l'éclairage était tamisé. Tous les tests ont été réalisés sur des sujets à jeun, entre 7 et 8:30 am. À chacun des tests, nous pouvions faire un suivi continu du patient avec l'ECG à 3 dériviations. Toutes les images ont été recueillies par le même technicien expérimenté, à l'aide d'un appareil à ultrasons à haute résolution (Hewlett-Packard 5500 or 7500), relié à une sonde vasculaire (Hewlett Packard 7-MHz).

Lors du test de fonction endothéliale, l'image de l'artère brachiale fut obtenue longitudinalement, la sonde vasculaire étant placée au-dessus de la fosse anté-cubitale. Les images de l'artère furent captées au sommet de l'onde R de l'ECG, une image étant enregistrée par intervalle de 5 secondes. Neuf images étaient enregistrées pendant 45 secondes (première séquence). Puis, un brassard de tension artérielle placé au niveau de l'avant-bras était gonflé pendant 5 minutes, à une pression de 220 mm Hg. Une minute après le relâchement du brassard, 12 images de l'artère brachiale étaient enregistrées pendant 90 secondes. Après une pause de 10 minutes, un second enregistrement de 9 images fut fait. Finalement, 0,3 mg de nitroglycérine était administré par voie sublinguale, permettant l'enregistrement de 9 autres images, 3 minutes après la prise du médicament. Les images sélectionnées furent analysées et comparées par deux techniciens, utilisant le logiciel d'analyse approprié (Dynamic Endothelial Assessment V2.0, Vasometrix). Pour chaque séquence, une moyenne de toutes les mesures de vasodilatation était calculée, afin

d'obtenir le pourcentage moyen de changement du diamètre artériel, comparativement aux valeurs précédant chacune des 2 interventions.

3.2 Résultats des mesures de fonction endothéliale

Notre groupe a obtenu une vasodilatation moyenne (\pm SD) de l'artère brachiale de $3,67 \pm 2,48$ %. Les résultats obtenus s'étendent de 0 à 8,85 % de vasodilatation induite par hyperémie réactive. Puis, la vasodilatation induite par la nitroglycérine s'affiche comme franchement supérieure, ayant causé une augmentation moyenne (\pm SD) du diamètre artériel de $14,78 \pm 2,77$ %, avec une étendue allant de 9,39 à 18,70 %. Le tableau 3 ci-dessous présente les longueurs des bases ayant permis de calculer les pourcentages d'augmentations des diamètres artériels, pour chacun des sujets.

| Sujet | dimension de base (1) | hyperémie | %dilatation | dimension de base (2) | nitrates | %dilatation |
|-------|-----------------------|-----------|-------------|-----------------------|----------|-------------|
| 1 | 3,76 | 3,85 | 2,37 | 3,70 | 4,14 | 11,95 |
| 2 | 4,04 | 4,08 | 0,94 | 4,09 | 4,47 | 9,39 |
| 3 | 4,07 | 4,43 | 8,85 | 4,23 | 4,88 | 15,37 |
| 4 | 3,87 | 4,01 | 3,64 | 3,96 | 4,53 | 14,44 |
| 5 | 4,43 | 4,60 | 3,77 | 4,27 | 4,89 | 14,47 |
| 6 | 3,64 | 3,55 | 0 | 3,55 | 4,13 | 16,34 |
| 7 | 3,75 | 3,94 | 5,17 | 3,8 | 4,39 | 15,42 |
| 8 | 3,87 | 4,19 | 8,19 | 4,00 | 4,75 | 18,70 |
| 9 | 3,77 | 3,81 | 1,11 | 3,81 | 4,33 | 13,54 |
| 10 | 4,20 | 4,31 | 2,67 | 4,28 | 5,06 | 18,22 |

Évaluation de l'épaisseur de l'I-M carotidienne

3.3 Méthodologies des mesures de l'épaisseur de l'I-M carotidienne par ultrasonographie en mode-B

Les mesures de l'épaisseur de l'I-M carotidienne ont été faites selon la méthode d'analyse des carotides par ultrasons en mode-B. Cette méthode permet des mesures bilatérales des parois internes et externes de l'intima-média des carotides communes, du bulbe carotidien et de l'artère carotidienne interne [161], permettant ainsi l'évaluation de 12 sites sur chaque artère. Conformément à un protocole standardisé, validé pour sa corrélation avec l'histologie et sa haute reproductibilité [166], les artères carotidiennes furent scannées,

sur les plans transverses et longitudinaux. Les images ont été enregistrées et conservées numériquement. Chaque site fut mesuré avec le logiciel Image Pro Plus, version 5.1.1.38 (Media Cybernetics), sur une longueur de 10 mm. Pour chacun des sites, les 3 mesures les plus importantes furent retenues afin d'en calculer la moyenne. Pour tous les calculs faits par la suite, les moyennes des deux côtés (gauche et droit) furent considérées.

3.4 Résultats de l'épaisseur de l'I-M carotidienne

En ce qui concerne l'épaisseur des parois intima-média carotidiennes de nos sujets, ceux-ci ont obtenu une épaisseur moyenne (\pm SD) de $0,82 \pm 0,09$ mm. Les résultats obtenus s'échelonnent de 0,67 à 0,95 mm.

CHAPITRE 4
DISCUSSION ET CONCLUSION

Discussion générale

4.1 Population à l'étude

Bien que l'étude des marqueurs inflammatoires en lien avec l'exercice est abordée dans la littérature, rares sont les publications impliquant des sujets plus âgés, sans condition inflammatoire apparente active ni évidence de MCAS. Nous croyons que notre groupe de sujets représente plus fidèlement la population générale, contrairement aux plus jeunes, aux athlètes ou, à l'extrême, la population cardiaque; les groupes les plus souvent testés en parcourant la littérature. Tel que discuté précédemment, ces populations particulières, ne représentant qu'une proportion relativement mineure de la masse, pourraient présenter des statuts inflammatoires modifiés, soit par les effets de l'exercice physique régulier ou par la MCAS. Nous avons choisi d'exclure les femmes de l'étude parce que nous ne connaissons pas avec certitude l'influence des taux d'oestrogènes sanguins sur le profil inflammatoire ou les mesures échographiques vasculaires comme la fonction endothéliale. Pour écarter la possible influence du diabète sur les paramètres à l'étude, les personnes diabétiques n'ont pas été considérées. Ces deux critères d'exclusion confèrent une plus grande homogénéité au groupe. Les critères de recrutement (âge, condition médicale, conditions physique et inflammatoire) nous auront permis de mieux comprendre l'activité du système inflammatoire chez le sujet normal d'âge mûr, dans le but de pouvoir mieux situer et interpréter ces réponses chez le patient avec MCAS.

4.2 Protocole d'exercice

Nous avons choisi l'épreuve d'effort sur tapis roulant suivant le protocole de Bruce modifié. Ce protocole d'exercice permet un départ moins abrupt que le protocole Bruce standard, ce qui est souhaitable pour des participants d'âge mûr, qui ne sont pas spécifiquement entraînés. Le premier palier moins intense constitue, en quelque sorte, une période d'échauffement, ce qui peut avoir favorisé la poursuite de l'exercice. De plus, la marche est pratiquée dans la vie courante et nécessite moins d'effort musculaire que le vélo par exemple, ce qui peut rendre l'exercice plus facile, moins inhabituel. Pour ces raisons, nous croyons qu'un exercice de marche rapide pour nos sujets est un avantage, comparativement à un exercice sur ergocycle, par exemple, qui nécessite des efforts importants des membres inférieurs et aurait pu causer l'arrêt prématuré de l'exercice.

4.3 Critères d'arrêt de l'exercice

Afin de s'assurer que chaque sujet complétait un test d'effort maximal, nous avons effectué des tests limités par les symptômes. À l'aide de l'échelle de perception de l'effort de Borg, graduée de 0 à 10, nous avons demandé, à plusieurs reprises pendant le test, comment la personne se sentait, autant pour l'essoufflement que pour la fatigue ou la douleur musculaire. Demandée systématiquement, à chaque palier ou plus souvent encore, la perception de l'effort nous permettait de savoir quel niveau de difficulté l'individu percevait, en relation avec les mesures de tension artérielle et la fréquence cardiaque. L'individu était verbalement et rigoureusement encouragé à se rendre au bout de ses capacités. Le terme de l'exercice était indiqué par une perception de l'effort $\geq 8/10$. Bien entendu, des signes de faible perfusion, des anomalies du signal électrocardiographique ou encore la volonté de l'individu à cesser l'exercice y auraient également mis fin. Nous croyons que tous les participants ont complété des tests d'effort maximaux valables, chacun d'eux ayant perçu un effort d'au moins 8/10 vers la fin des tests. De plus, la dépense énergétique maximale estimée fut de 12.7 ± 1.3 METs, avec une fréquence cardiaque maximale de 158 ± 11 bpm ($101 \pm 7\%$ de la fréquence cardiaque maximale prédite selon l'âge) et une tension artérielle systolique de 192 ± 23 mmHg, pour un double produit moyen de $30\,447 \pm 5153$. Pour ces raisons, nous croyons que les tests d'effort réalisés par nos participants sont parfaitement valides en terme d'intensité. En plus, ces épreuves, toutes négatives de façon non équivoque pour la présence d'ischémie myocardique à un niveau de dépense énergétique élevé, appuient notre présomption que notre groupe de sujets constitue un groupe normal tout à fait valable.

Rôle de l'exercice dans l'activation du système inflammatoire

4.4 Discussion sur l'augmentation de la CRP et IL-6

Les études traitant de la CRP en réponse à l'exercice, en utilisant diverses populations et différents contextes d'exercice, ne permettent pas de tirer une conclusion claire et unanime de ce que devrait être la réponse inflammatoire à l'exercice chez le sujet d'âge mûr apparemment sain. Une étude de Gaspardone et al. [120], avec le même protocole d'effort et une population similaire en termes d'âge et de condition physique et cardiaque, n'a rapporté aucune variation de la CRP à l'exercice maximal. Tout comme dans

notre étude, les prélèvements sanguins ont été faits immédiatement avant et après l'épreuve d'effort, leur groupe ayant également prélevé à 6, 24 et 48 heures après la fin de l'exercice, contrairement à notre protocole. Le même phénomène s'étant produit chez leurs patients avec angine chronique stable et ischémie myocardique à l'effort, les auteurs concluent que l'ischémie myocardique ne serait pas un stimulus adéquat pour causer une modification des concentrations sériques de CRP. Toutefois, le manque de renseignements concernant l'épreuve d'effort ne nous permet pas de vérifier si les participants de l'étude de Gaspardone et al. [120] ont réellement fourni un effort maximal. D'ailleurs, le groupe n'expose aucun résultat quant à la durée, le double-produit ou encore les METs réalisés.

Afin d'expliquer la discordance entre nos résultats et ceux du groupe de Gaspardone, nous avons questionné M. Bertrand, biochimiste de l'hôpital Laval ayant réalisé nos analyses de CRP. Après recherches, nous pouvons suspecter le manque de sensibilité de la trousse d'analyse de la CRP utilisée par le groupe de Gaspardone. En effet, les concentrations sériques de CRP ont été déterminées par la méthode immunoturbidimétrique de Roche (Unimate 3 CRP, Milan, Italy), laquelle offrait une sensibilité de détection de 0,46 mg/L, donc une moindre précision comparativement à celle utilisée ici, qui a une sensibilité de 0,18 mg/L. Nous considérons donc la possibilité que la faible sensibilité de leur méthode d'analyse pourrait avoir empêché la détection des augmentations de CRP suite à l'exercice, surtout en ce qui concerne les plus petites concentrations. Puis, notre biochimiste a souligné la possibilité que la non-augmentation de la CRP dans l'étude de Gaspardone et al. pourrait s'expliquer par des analyses de laboratoire faites à différents moments (de la journée ou sur plus d'une journée) et non en même temps (*one batch analysis*), favorisant ainsi des variations dans la calibration de l'appareil.

Puis, nous avons considéré la possibilité que l'augmentation des concentrations sériques de la CRP et de l'IL-6 pourrait résulter des dommages musculaires causés par l'exercice intense. En effet, nous savons que l'IL-6 s'est retrouvée associée, à plus d'une reprise, aux dommages provoqués par l'exercice exhaustif sur les fibres musculaires [124, 125]. La CRP, sécrétée par l'intermédiaire de l'IL-6, pourrait-elle être modifiée en réponse aux dommages infligés à la musculature? À notre connaissance, aucune étude n'a noté

d'augmentation significative de la protéine hépatique suite aux dommages musculaires résultants d'un exercice exhaustif. Il faut dire que les études s'étant penchées sur cette question sont très rares et ont présenté leurs résultats à partir de méthodes bien différentes en terme de type d'exercice et des populations choisies [176, 177]. Dans notre cas, les analyses statistiques de la myoglobine et de la CK, 45 minutes après la fin de l'exercice, étaient inchangées comparativement aux concentrations plasmatiques retrouvées 5 minutes avant l'effort. Toutefois, afin de s'assurer plus pleinement de l'absence de relation entre l'exercice et les dommages musculaires, il aurait fallu observer ces marqueurs dans les heures suivant l'arrêt de l'exercice, ce qui constitue une limitation relative de notre étude.

D'autres investigations ont souligné la possibilité que l'augmentation des concentrations d'IL-6 suite à l'exercice soit due à l'activation du système sympathique lors de l'exercice, possiblement par l'augmentation des cathécholamines [129, 178]. Sachant ceci, il aurait été intéressant de vérifier l'association entre la production d'IL-6 et la réponse des cathécholamines chez nos participants. Cependant, du à la grande complexité analytique, aux contraintes engendrées par de telles manipulations et surtout aux exigences de volumes des spécimens, les analyses de laboratoire ne furent pas réalisables.

Finalement, notons qu'ici, l'augmentation de la CRP et de l'IL-6 post-exercice est immédiate et transitoire (les valeurs moyennes étant toutes retombées 45 minutes après l'arrêt du test). Bien que les marqueurs pourraient avoir augmenté encore plus franchement suite à l'exercice (on sait que la CRP peut augmenter jusqu'à 1000 fois sa valeur de base), nous interprétons ces résultats comme étant une réponse physiologique plausible à un exercice maximal. Bien que la signification de cette augmentation reste à mieux comprendre et ses déterminants à mieux définir (par exemple chez les sujets sains versus ceux atteints de maladie athéromateuse et les sujets non entraînés versus ceux entraînés), nous soulignons l'originalité de nos résultats puisque à notre connaissance cette augmentation immédiate et transitoire à l'exercice des marqueurs inflammatoires CRP et IL-6 n'a pas encore été décrite chez les sujets apparemment normaux. De plus, nos résultats sont probants puisqu'ils démontrent une augmentation pour chacun des sujets et non pas seulement l'augmentation de la moyenne ou la médiane d'un groupe. En effet, tous les

sujets ont exhibé une augmentation aigue du CRP à l'exercice et tous sauf un ont aussi augmenté en même temps leur IL-6. Finalement, l'augmentation si immédiate du CRP soulève la question du mécanisme de son largage, puisque cette latence nous semble trop brève pour être expliquée par la voie classique généralement admise de production du CRP, par les hépatocytes sous la stimulation d'IL-6. Nous soulevons l'hypothèse que la CRP dans ce cas particulier pourrait provenir directement des cellules endothéliales.

4.5 Discussion sur l'augmentation de l'IL-18

Une récente étude de Neumayr [130], la seule à notre connaissance à avoir évalué l'impact d'un exercice sur les concentrations d'IL-18, a porté notre attention sur la diminution du marqueur inflammatoire après un marathon cycliste d'une journée. Puis, tel que proposé, l'exercice exhaustif aurait tendance à causer une diminution apparemment paradoxale des agents inflammatoires, particulièrement lorsque l'exercice est accompagné d'un stress de compétition et/ou environnemental, et ce chez le sujet très entraîné [131]. Cette observation s'applique bien dans le cas des cyclistes marathoniens, dans le contexte d'une compétition. L'absence de cette condition lors du test d'effort sur tapis roulant pourrait expliquer pourquoi nous n'avons pas observé de diminution de l'IL-18, mais plutôt une augmentation statistiquement significative. On affirme aussi que les effets immunologiques de l'exercice dépendent de l'intensité et de la durée de l'activité, en relation avec le niveau de forme physique de l'individu [131]. À ce propos, la courte durée (quelques minutes) et le fait que les sujets n'étaient pas tous régulièrement actifs, ni spécifiquement entraînés pour ce type d'exercice, les différencient des cyclistes de Neumayr et pourraient contribuer à expliquer la réponse différente de l'IL-18 chez nos sujets. Afin de mieux comparer la réponse du marqueur avec l'étude de Neumayr et al., il aurait fallu analyser les concentrations plasmatiques de l'IL-18 dans les heures suivant le test d'effort et jusqu'à 24 heures après celui-ci. Il est clair, dans le cas de l'IL-18, que d'autres études seront nécessaires afin d'élargir l'étendue des connaissances quant à la réponse de ce médiateur inflammatoire à l'exercice intense, et ce autant chez les sujets en santé que chez les malades.

4.6 Discussion sur l'augmentation de la MPO

Tel que vu plus tôt, l'activation du marqueur MPO après un exercice intense a été observée, tant lors d'un exercice bref [133] qu'un de plus longue durée [132]. On spécifie que l'intensité de l'exercice occuperait un rôle d'importance dans l'élévation des concentrations de MPO [136]. Nos résultats vont dans ce sens, avec une augmentation marquée du marqueur à la suite d'un effort maximal. Contrairement à certains travaux qui expliquent l'augmentation de la MPO par des dommages musculo-squelettiques (par l'augmentation des radicaux libres résultant de l'exercice intense) [137, 138], nos résultats ne semblent pas afficher la même tendance, bien qu'obtenus trop tôt après l'exercice. À notre connaissance, bien peu études ont évalué l'impact d'un exercice intense sur les taux plasmatiques de MPO et les dommages musculo-squelettiques dénotés par l'augmentation de la myoglobine et la CK. L'étude de Childs et al. [179], bien que très différente de la nôtre, a testé l'effet de 3 séries de 10 contractions musculaires excentriques sur le biceps brachial, avec une charge représentant 80 % d'une répétition maximale (1 RM). Le groupe a aussi dénoté l'augmentation de la MPO, de la myoglobine et de la CK, jusqu'à plusieurs jours après l'exercice. Nous comprenons donc avec cette investigation que l'exercice excentrique est dommageable pour le muscle. Bien que nous ne pouvons pas nous assurer que l'exercice physique n'a pas causé de dommages musculaires significatifs (dû à l'échantillonnage trop précoce), l'absence d'augmentation (à 45 minutes) des marqueurs de dommages musculaires dans notre étude pourrait alors s'expliquer par le fait que notre protocole d'exercice impliquait un travail musculaire concentrique, que l'on peut supposer moins dommageable. L'augmentation de la MPO plasmatique remarquée dans le présent projet reste compatible avec une réponse physiologique induite par un exercice bref et intense et non par un dommage musculaire.

Relation entre les valeurs et les augmentations des marqueurs inflammatoires

Les analyses statistiques complémentaires effectuées nous ont permis de constater l'absence de corrélation entre les valeurs de marqueurs inflammatoires, pour chacun des temps de prélèvements. À -60, -5, 1 et 45 minutes, tous les marqueurs comparés entre eux n'affichent aucune relation linéaire significative, excepté pour la CRP et l'IL-6, au dernier prélèvement, avec un r de 0,60 et un p de 0.04 (corrélation plutôt faible). Nous avons

également vérifié les corrélations entre les augmentations des marqueurs inflammatoires à l'exercice. En observant plus spécifiquement les coefficients de corrélation des quatre marqueurs inflammatoires, nous avons retenu les trois situations que nous considérons les plus descriptives de l'impact de l'exercice sur l'activation du système inflammatoire: 1) -5 et 1 minutes, 2) les moyennes de -60 et -5 minutes avec les valeurs à 1 minute post-exercice et 3) les moyennes de -60 et -5 minutes et les moyennes de 1 et 45 minutes. Parmi tout ces calculs, aucune ne démontre de corrélation significative.

Ces analyses statistiques confirment que les marqueurs inflammatoires s'expriment différemment l'un de l'autre, autant pour leurs valeurs que leurs augmentations. Toutefois, nous considérons aussi le fait que tous ont augmentés de façon significative suite à l'exercice. Ici, notre intérêt est porté sur la relation entre la CRP et l'IL-6, lesquels sont présentés dans la littérature comme étant intimement reliés, le premier étant sécrété par l'intermédiaire du deuxième. Dans le cas présent, ces deux marqueurs inflammatoires augmentent significativement suite à un effort physique bref et intense, mais ne présenteraient aucune corrélation aux différents temps, ou une faible corrélation à 45 minutes post-exercice.

Si la CRP et l'IL-6 s'expriment différemment, se pourrait-il que la CRP soit sécrétée par un autre mécanisme de production que par la stimulation de l'IL-6 ? Ceci nous rapporte à notre hypothèse de largage du CRP par les cellules endothéliales. Il serait intéressant de vérifier une telle question dans de futurs travaux.

Les mesures échographiques vasculaires

4.7 Interprétation des résultats des mesures de fonction endothéliale

Suite aux analyses de la fonction endothéliale de l'artère brachiale induite par hyperémie réactive, notre groupe d'hommes en bonne santé a obtenu un pourcentage de vasodilatation moyen (\pm SD) de $3,67 \pm 2,48$ %, un degré de vasodilatation relativement faible pour des sujets non coronariens. Se référant à la revue de Moens et al. [146] pour interpréter ces résultats, la vasodilatation moyenne obtenue dans notre groupe correspondrait davantage à une fonction endothéliale plus souvent retrouvée chez les

patients avec MCAS. Pour la variabilité inter-sujets, on observe un écart-type de 2,48 %, ce qui se rapproche des résultats des études dont Moens et al. font mention dans leur revue de littérature, étant toutefois un peu moins importante que les variabilités rapportées par d'autres études (3,5 à 7 %).

Ainsi et étonnamment, nos sujets semblent afficher une capacité de vasodilatation artérielle modérément anormale. En effet, si l'on se fie à la revue de Moens, nous aurions pu nous attendre à observer un pourcentage de vasodilatation moyen d'au moins 6 %, ce qui semble être observé dans plusieurs études, chez les individus en bonne santé. Cependant, on remarque que la plupart des études s'intéressant à la fonction endothéliale ont réalisé leurs projets avec des gens ayant diverses pathologies (angine, diabète), ou avec des participants plus jeunes que les nôtres. Nous ne savons pas dans quelle mesure l'âge plus avancé serait relié à une moindre dilatation, mais si l'on considère qu'il existe une relation entre ces deux facteurs, les résultats observés dans la littérature, impliquant souvent des sujets plus jeunes, pourraient expliquer une capacité de dilatation dépendant de l'endothélium plus élevée. Bien que nous ayons obtenu chez nos sujets une estimation de fonction endothéliale moyenne inférieure à celle rapportée dans la littérature chez les sujets sains, nous demeurons convaincus que les mesures prises dans le présent projet, étant celles d'un groupe contrôle d'âge mûr, sont plus représentatives de la population avec MCAS.

Considérant l'hypothèse que la prise d'hypolipémiants pourrait avoir amélioré les mesures d'hyperémie réactive, nous ne pouvons conclure. En effet, des quatre sujets sous médication hypolipémiante, l'un d'eux a choisi de se retirer du projet sans participer aux mesures échographiques vasculaires. Puis, les résultats d'un autre participant n'ont pu être considérés, faute d'avoir obtenu des images échogènes et donc analysables. Ceci nous laisse donc avec seulement deux sujets sous médication hypolipémiante, ce qui ne nous permet pas d'évaluer l'impact potentiel de ces agents sur la réactivité endothéliale chez nos sujets. Pour se faire, il aurait fallu réaliser ces tests sur un plus grand nombre d'individus.

L'explication de ce résultat pour notre groupe d'individus d'âge mûr et apparemment sains demeure ardue à développer. Premièrement, nous pouvons penser que les facteurs de risque

de maladie cardiovasculaire, retrouvés chez certains de nos sujets, pourraient avoir altéré l'intégrité de leur endothélium. Puis, nous pourrions spéculer sur la présence de MCAS inapparente chez ces individus, ce qui expliquerait la faible vasodilatation observée pour la majorité d'entre eux. Cependant, ceci est moins probable, ces individus n'ayant aucune histoire, ni évidence de maladie des artères coronaires, ceci étant corroboré par des tests d'effort cliniquement et électriquement négatifs à un haut niveau de dépense énergétique, et ce pour tous les participants. Bien entendu, des coronarographies normales nous auraient assuré encore mieux de l'absence de MCAS chez nos sujets. Cependant, vu le caractère invasif et donc non sans risque de cet examen, en plus des coûts reliés à celui-ci, il aurait été contraire à l'éthique de réaliser de tels tests chez des individus ne démontrant ni signes ni symptômes de maladie. En plus, même une coronagraphie normale n'élimine pas la possibilité de MCAS dans la paroi qui est angiographiquement invisible ni une dysfonction endothéliale due à la présence de facteurs de risque d'athérosclérose. Sachant que peu d'études ont évalué la fonction endothéliale chez des sujets sains et d'âge mûr, il est difficile de comparer nos résultats avec ceux d'autres groupes de recherche. Nous croyons que les résultats obtenus dans le cas présent soulignent la nécessité de demeurer prudents et critiques dans l'interprétation de ce qui est normal et ce qui est pathologique, en regard des mesures de fonction endothéliale. Finalement, il sera nécessaire d'élargir l'évaluation avec davantage d'individus, semblables en termes d'âge et d'état de santé, afin de confirmer ces résultats et aussi de construire une banque de données plus représentative de la fonction endothéliale de cette population.

4.8 Discussion sur les mesures de la fonction endothéliale

Une récente revue de littérature de Moens et al. [146] au sujet de la fonction endothéliale de l'artère brachiale résume bien l'état des connaissances à ce propos. Dans ce travail, on reconnaît que la fonction endothéliale est diminuée chez les patients avec athérosclérose coronarienne et facteurs de risque cardiovasculaires, lesquels s'améliorent avec une thérapie visant à les contrôler. On suggère également que ces mesures de la réactivité endothéliale puissent prédire les événements cardiaques et évaluer le risque cardiovasculaire de différentes populations, à court et à long terme [146]. Bien que l'on dénote une certaine disparité dans les résultats obtenus en général, l'utilité expérimentale

des mesures échographiques vasculaires semble bien reconnue. Cependant, la fiabilité de cette méthode d'évaluation a récemment été remise en question, par une équipe de recherche des Pays-Bas [153].

4.8.1 Fiabilité de la technique d'analyse de la fonction endothéliale

À cet effet, un article récent de Hijmering et al. [153] traite de la variabilité de la fonction endothéliale et ses conséquences dans l'application clinique des résultats. Dans celui-ci, on mentionne la reproductibilité des mesures du diamètre de l'artère brachiale, où une faible variabilité intra-session, inter-session et inter-observateurs sont démontrées. Cependant, cette reproductibilité ne s'appliquerait pas dans l'estimation de la fonction endothéliale, ceci étant expliqué par une variabilité inter-sessions importante et principalement due à des facteurs physiologiques [153]. L'article de Hijmering et ses collègues souligne la fluctuation de la fonction endothéliale pendant le jour et l'effet du régime alimentaire sur celle-ci. En accord avec ces observations, ces influences physiologiques, difficiles à contrôler et à vérifier, pourraient limiter l'utilisation de la fonction endothéliale en tant qu'outil thérapeutique pour un patient donné [153]. Le manque de reproductibilité des mesures de fonction endothéliale empêcherait de faire un suivi fiable pour les paramètres vasculaires d'un même individu [153]. Au sujet des influences exogènes, nous croyons que celles-ci ont été minimisées dans notre projet, tous les tests ayant été complétés tôt en avant-midi (avant 8h30) et à l'état de jeûne depuis au moins 12 heures. De plus, la prise de médicaments vasoactives (3 médicaments anti-hypertenseurs), tout comme les substances stimulantes (café, boisson gazeuses, chocolat) et l'alcool furent interdites 48 heures avant le test. Les sujets ont été avisés de ne pas accomplir d'exercices inhabituels la journée précédant cet examen. De plus, tous les tests ont été faits dans une pièce à température contrôlée, sans bruit, où la lumière était tamisée. Cette standardisation de l'environnement a certainement contribué à restreindre les influences physiologiques, tenues responsables de la grande variabilité inter-sessions. On reconnaît néanmoins la validité du test de fonction endothéliale en tant qu'outil de recherche fiable au niveau d'un groupe [153], comme c'est le cas dans notre étude.

4.9 Interprétation des mesures de l'épaisseur de l'intima-média carotidienne

En parcourant la littérature, l'I-M carotidienne des sujets sains s'étendrait approximativement de 0,60 [161] à 0,87 mm d'épaisseur [168], en moyenne. Les mesures de l'I-M carotidienne chez la population asymptomatique étant peu nombreuses, encore plus rares sont celles réalisées avec des individus plus âgés. Comme nous pouvons le constater, les mesures échographiques de l'I-M carotidienne démontrent une certaine disparité dans les résultats obtenus. Cependant, des mesures moyennes de l'I-M carotidienne ≥ 1 mm semblent considérées comme étant extrêmes et plus prédictives de MCAS [161, 168]. En ce qui concerne nos sujets, les résultats sont inférieurs à 1 mm, ce qui concorde avec nos attentes. Notre groupe, avec une épaisseur de l'I-M carotidienne moyenne (\pm SD) de $0,82 \pm 0,09$ mm, se rapproche des sujets contrôles de Visonà et al. qui ont échantillonné des sujets un peu plus jeunes que les nôtres (âge moyen de 55,9 ans) et obtenu une épaisseur moyenne des carotides de $0,87 \pm 0,10$ mm. Au sujet de la variabilité inter-sujets, nous pouvons affirmer que celle-ci est négligeable (0,09 mm). Tout comme les mesures de la fonction endothéliale, nous croyons que d'autres mesures de l'épaisseur de l'I-M carotidienne chez le sujet sain d'âge mûr seront nécessaires afin d'établir des valeurs de référence pour cette population.

4.10 Discussion sur les mesures de l'épaisseur de l'intima-média carotidienne

L'échographie des carotides par ultrasons en mode-B est une méthode qui fut discutée de manière exhaustive dans un article de Lonn, en 2001 [161]. Dans cet ouvrage de référence, l'auteure nous présente toute la validité de cette technique d'imagerie et son utilité pour stratifier le risque cardiovasculaire. La revue de Lonn mentionne d'abord la haute reproductibilité et la corrélation histologique de la technique. On y rapporte que l'échographie des carotides en mode-B désigne les sites spécifiques de l'athérosclérose carotidienne, tout en étant indicateur de l'athérosclérose généralisée. L'article souligne aussi le parallèle reconnu entre l'athérosclérose des carotides et les facteurs de risques de la maladie des artères. Puis, on rapporte que l'épaisseur de l'I-M carotidienne serait reconnue pour prédire des événements cardiaques dus à la maladie des artères coronariennes. Toutefois, différents problèmes méthodologiques reflètent le certain manque de standardisation de cette méthode [161]. Ceci peut compliquer l'interprétation des valeurs

obtenues et leur comparaison avec les résultats d'autres études. Malgré ces désavantages, nous croyons en la validité de la technique et des résultats du présent projet, lesquels ont été amassés par le même technicien expérimenté.

4.11 Fonction endothéliale et I-M carotidienne en relation avec l'âge

Contrairement à d'autres études ayant évalué des sujets sains de différents groupes d'âges [155, 180], nous n'avons pas observé de corrélation entre une fonction endothéliale diminuée et l'âge plus avancé. En effet, nos résultats s'apparentent davantage à ceux de Schroeder et al. [181], où les deux facteurs s'affichent comme étant indépendants l'un de l'autre.

Puis, à l'opposé d'une étude ayant remarqué une augmentation linéaire de l'épaisseur de l'I-M carotidienne avec l'âge [173], nous avons plutôt observé l'absence de corrélation entre les deux facteurs. Toutefois, il est important de mentionner que cette investigation impliquait 319 individus, âgés de 21 à 105 ans. Cette étude d'envergure a rapporté que l'épaississement de l'I-M carotidienne serait un effet physiologique associé à l'âge, affirmant que l'épaisseur de l-I-M carotidienne et la prévalence de plaque athérosclérotique seraient les plus importantes aux 7e et 8e décennies de vie, mais pas nécessairement à un âge plus avancé [173]. En effet, un épaississement intimal plus diffus et distinct de la formation de plaque pathologique fut observé chez les centenaires [173].

Dans le cas présent, le petit nombre de sujets peut avoir affecté la possibilité de détecter une corrélation entre l'âge et ces mesures échographiques vasculaires. Encore une fois, des recherches supplémentaires sur le sujet s'imposent afin de compléter nos observations.

4.12 Fonction endothéliale en corrélation avec l'I-M carotidienne

Nos analyses statistiques ne démontrent aucune corrélation entre la fonction endothéliale de l'artère brachiale et l'épaisseur de l'I-M carotidienne ($r=-0,48$, $p=0,19$). Ces résultats n'ont rien de surprenant à notre avis, puisque nos sujets, formant un petit

échantillon, sont des individus en bonne santé apparente. Nous ne pouvions donc nous attendre à observer une corrélation entre les deux facteurs.

Limitations de cette étude

Le nombre relativement restreint de participants limite la généralisation des résultats pour cette population. De plus, le recrutement de nos participants parmi les clients du PPMC (Pavillon de Prévention des Maladies Cardiaques) de l'hôpital Laval peut avoir fait en sorte que ceux-ci étaient des individus avec facteurs de risque cardiovasculaires. Bien que les sujets à l'étude sont ou étaient dans un programme de prévention primaire (aucune histoire de maladie cardiovasculaire), les individus se retrouvant au PPMC sont, bien souvent, encouragés à fréquenter l'établissement par leur médecin de famille parce qu'ils présentent un portrait de santé risqué pour développer la maladie. L'hypercholestérolémie, l'hypertension artérielle, le tabagisme ancien, l'histoire familiale de MCAS et/ou la sédentarité pour plusieurs, facteurs de risque retrouvés parmi certains de nos sujets, peuvent avoir eu des effets néfastes sur leur santé vasculaire et leur statut inflammatoire. Bien que nos sujets étaient apparemment en bonne santé, les mesures échographiques vasculaires auront été prises sur des individus dont l'intégrité de l'endothélium pourrait avoir été affectée par leurs facteurs de risque, ce qui pourrait expliquer les faibles mesures de fonction endothéliales obtenues. Par contre, nos résultats sur l'I-M carotidienne se rapprochent davantage à ce qu'on attendrait d'un groupe de sujets sans maladie.

Ceci soulève un questionnement sur la faisabilité de constituer un groupe d'individus normaux et nous porte à se pencher sur la définition du terme. En effet, que signifie être normal? En supposant qu'elle existe, comment peut-on déterminer la normalité d'un individu? Il est difficile, voire impossible de pouvoir s'assurer que nos sujets sont réellement sains. Aurions-nous dû recruter des sujets n'ayant aucun facteur de risque? Ou bien est-ce là toute la représentativité du groupe constitué? Toutefois, nous croyons que nos observations résultent d'un échantillon de gens parfaitement représentatifs, que nous n'avons pas cherché à rendre parfait (sans facteur de risque). Cependant, si certaines

caractéristiques ou résultats laissent supposer que notre groupe n'est pas parfaitement en santé, ne pourrions-nous pas considérer la probabilité que personne ne l'est vraiment?

Finalement, une autre limitation de cette étude pourrait être due au type d'exercice réalisé par les sujets. En effet, tel que suggéré dans la littérature, l'exercice physique de type excentrique semble plus dommageable pour la musculature que celui de type concentrique. Nous considérons le fait que nos sujets, s'étant exercés sur une pente ascendante, ont réalisé un *travail concentrique, causant peut-être moins de dommages qu'une course en déclinaison*, par exemple. Afin de s'assurer du réel impact de l'exercice maximal sur les dommages musculo-squelettiques, il aurait fallu analyser les concentrations de myoglobine et de CK dans les heures suivant l'arrêt de l'exercice. Tel qu'expliqué plus tôt, on observerait les valeurs maximales de myoglobine et de CK à environ 2 et 6 heures, respectivement. Les prélèvements sanguins ayant été faits de façon trop précoce par rapport à l'exercice ont pu nous faire manquer une montée des marqueurs de dommages musculo-squelettiques, ce qui nous empêche de conclure plus définitivement quant à leur impact.

Retombées de cette étude

L'originalité de cette investigation repose premièrement dans le choix de la population puisqu'elle constitue l'une des rares études sur l'inflammation et l'exercice à impliquer des sujets d'âge mûr, de toute évidence en bonne santé, avec une condition *inflammatoire inactive*, on le présume (10 des 12 sujets avaient une concentration sérique basale de CRP inférieure à 3 mg/L, valeur limite de la normale). En comparaison avec d'autres populations et d'autres protocoles d'exercices, cette étude aura permis d'observer la réponse inflammatoire chez la population dite normale. Grâce à l'absence de l'entraînement régulier ou de la MCAS, nos observations constitueront des informations fiables sur l'impact de l'exercice maximal et de courte durée sur l'activation du système inflammatoire. À notre connaissance, notre projet est le premier à démontrer une augmentation consistante, immédiate et transitoire, d'une série de marqueurs et médiateurs inflammatoires, provoquée par l'exercice maximal. Les concentrations sériques augmentées de CRP, d'IL-6, d'IL-18 et de MPO, tantôt associées à la maladie, tantôt associées à des efforts extrêmes de longue durée, pourraient aussi être causées par une réponse physiologique de l'organisme à un

exercice maximal, mais pas extrême en intensité et pas nécessairement relié à la présence de maladie athérosclérotique. Afin de pouvoir bien interpréter les réactions inflammatoires chez les gens avec MCAS, nous croyons qu'il est impératif de connaître d'abord le fonctionnement du système inflammatoire chez l'individu normal. Ceci permettra un meilleur jugement quant aux anomalies des changements inflammatoires observés chez les malades. Voilà toute l'originalité et la raison d'être de notre étude. De plus, l'augmentation si rapide de CRP en réponse à l'exercice nous amène à se questionner sur l'origine de la protéine ainsi que son mécanisme de largage. La CRP pourrait-elle être sécrétée par une autre voie, plus directe et rapide, que celle des hépatocytes sous la stimulation par l'IL-6 ? Cette question pourra être adressée par de futures recherches.

Vu la relative nouveauté des marqueurs inflammatoires IL-18 et MPO et leur possible lien avec la MCAS, notre étude pourra contribuer au développement des connaissances à leur sujet. De plus, cette étude est l'une des premières à s'intéresser à l'impact de l'exercice bref et intense sur ces marqueurs originaux, et ce chez les individus plus âgés et non-spécifiquement entraînés.

Au point de vue des mesures échographiques vasculaires, les résultats présentés dans la littérature démontrent certaines divergences. Dans notre centre hospitalier, nous ne connaissons pas les valeurs attendues ou normales sur lesquelles baser nos évaluations. Les mesures recueillies lors de cette étude contribueront à établir des valeurs de référence sur la fonction endothéliale de l'artère brachiale et l'épaisseur de l'I-M carotidienne chez des sujets matures en bonne santé.

Sommaire

Les fluctuations des marqueurs inflammatoires CRP, IL-6, IL-18 et MPO à l'exercice bref et intense, chez les sujets d'âge mûr et en bonne santé ne sont pas clairement établies. De plus, les marqueurs inflammatoires IL-18 et MPO sont relativement nouveaux, l'étendue des connaissances à leur sujet est encore restreinte, surtout lorsqu'il est question de les associer à l'exercice bref et intense. De surcroît, les valeurs de référence pour la fonction endothéliale et l'épaisseur de l'I-M carotidienne manquent d'homogénéité. La

présente investigation avait comme objectif de contribuer à l'établissement de valeurs de référence chez la population ci-haut mentionnée, en ce qui a trait à la réponse inflammatoire de certains marqueurs inflammatoires à l'exercice et aux mesures échographiques vasculaires.

Conclusion

Chez nos sujets asymptomatiques et sans évidence d'ischémie myocardique, un exercice bref et intense active le système inflammatoire, tel que démontré par l'augmentation immédiate de la CRP, l'IL-6, l'IL-18 et la MPO. Bien que temporaires, ces réponses démontrent que l'exercice constitue un stress suffisamment important pour influencer le système de défense de l'organisme. Nos participants étant de toute évidence des individus normaux, il est donc permis de croire que l'activation du système inflammatoire, chez le sujet sain d'âge mûr, serait une réponse physiologique à l'exercice relativement intense mais de courte durée. En effet, les concentrations de tous les marqueurs et médiateurs étudiés ont augmentés significativement lors de l'épreuve d'effort, pour retourner à leurs concentrations initiales en moins d'une heure après l'arrêt de l'exercice, démontrant un effet immédiat et transitoire.

De plus, la réponse immédiate des marqueurs et médiateurs inflammatoires mesurés, et en particulier celle de la CRP, nous poussent à se questionner sur son mécanisme de production. En effet, une augmentation aussi franche et rapide (en l'espace de quelques minutes seulement) et sans corrélation avec la poussée de IL-6 suggère un autre processus de largage de la CRP que celui généralement reconnu (par l'entremise de l'IL-6 et produite par les hépatocytes). Se pourrait-il que la protéine inflammatoire soit sécrétée par les cellules endothéliales elles-mêmes ?

Puis, contrairement à plusieurs études ayant établi des valeurs de référence de la fonction endothéliale par hyperémie réactive pour des sujets sains, nos résultats sont plus conservateurs, s'apparentant davantage à ceux observés chez les patients avec MCAS. Par contre, mais comme prévu, l'épaisseur de l'I-M carotidienne s'est retrouvée en deçà de la mesure extrême de 1 mm et plus souvent retrouvée chez les individus avec MCAS. Encore

une fois, nous soulignons le fait, appuyé par notre étude, que les valeurs de fonction endothéliale et de l'épaisseur de l'I-M carotidienne ne sont pas bien établies chez les individus normaux d'âge mûr. D'autres évaluations seront nécessaires afin de construire une banque de données encore plus fiable et représentative de l'état vasculaire de cette population sous-évaluée.

Liste des références

1. Bogaty, P., ed. *Cours intégré sur l'appareil cardiovasculaire MED-17103: Thème V: Cardiopathie ischémique*. Révisé 2003. 295.
2. Braunwald, E., *Shattuck lecture--cardiovascular medicine at the turn of the millennium: triumphs, concerns, and opportunities*. N Engl J Med, 1997. **337**(19): p. 1360-9.
3. Kannel, W.B., et al., *Factors of risk in the development of coronary heart disease--six year follow-up experience. The Framingham Study*. Ann Intern Med, 1961. **55**: p. 33-50.
4. Braunwald, E.e.a., *Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 6th edition ed. 2001. 2297.
5. Ross, R., *Atherosclerosis--an inflammatory disease*. N Engl J Med, 1999. **340**(2): p. 115-26.
6. Shimokawa, H., *Primary endothelial dysfunction: atherosclerosis*. J Mol Cell Cardiol, 1999. **31**(1): p. 23-37.
7. Anderson, T.J., *Assessment and treatment of endothelial dysfunction in humans*. J Am Coll Cardiol, 1999. **34**(3): p. 631-8.
8. Bonetti, P.O., L.O. Lerman, and A. Lerman, *Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003. **23**(2): p. 168-75.
9. Rackley, C.E., *New clinical markers predictive of cardiovascular disease: the role of inflammatory mediators*. Cardiol Rev, 2004. **12**(3): p. 151-7.
10. Hansson, G.K., *Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease*. N Engl J Med, 2005. **352**(16): p. 1685-95.
11. Baumann, H. and J. Gauldie, *The acute phase response*. Immunol Today, 1994. **15**(2): p. 74-80.
12. Gabay, C. and I. Kushner, *Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation*. N Engl J Med, 1999. **340**(6): p. 448-54.
13. Pyne, D.B., *Regulation of neutrophil function during exercise*. Sports Med, 1994. **17**(4): p. 245-58.
14. Northoff, H. and A. Berg, *Immunologic mediators as parameters of the reaction to strenuous exercise*. Int J Sports Med, 1991. **12 Suppl 1**: p. S9-15.

15. Weight, L.M., D. Alexander, and P. Jacobs, *Strenuous exercise: analogous to the acute-phase response?* Clin Sci (Lond), 1991. **81**(5): p. 677-83.
16. Taylor, C., et al., *Hematologic, iron-related, and acute-phase protein responses to sustained strenuous exercise.* J Appl Physiol, 1987. **62**(2): p. 464-9.
17. Geffken, D.F., et al., *Association between physical activity and markers of inflammation in a healthy elderly population.* Am J Epidemiol, 2001. **153**(3): p. 242-50.
18. Ford, E.S., *Does exercise reduce inflammation? Physical activity and C-reactive protein among U.S. adults.* Epidemiology, 2002. **13**(5): p. 561-8.
19. Tortora, G., and Grabowski, S, *Principes d'anatomie et de physiologie.* ERPI ed. 2001. 1121.
20. Verma, S. and T.J. Anderson, *Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist.* Circulation, 2002. **105**(5): p. 546-9.
21. Behrendt, D. and P. Ganz, *Endothelial function. From vascular biology to clinical applications.* Am J Cardiol, 2002. **90**(10C): p. 40L-48L.
22. Szmitko, P.E., et al., *New markers of inflammation and endothelial cell activation: Part I.* Circulation, 2003. **108**(16): p. 1917-23.
23. Lerman, A. and A.M. Zeiher, *Endothelial function: cardiac events.* Circulation, 2005. **111**(3): p. 363-8.
24. Laude, K., C. Thuillez, and V. Richard, *Coronary endothelial dysfunction after ischemia and reperfusion: a new therapeutic target?* Braz J Med Biol Res, 2001. **34**(1): p. 1-7.
25. Widlansky, M.E., et al., *The clinical implications of endothelial dysfunction.* J Am Coll Cardiol, 2003. **42**(7): p. 1149-60.
26. Vita, J.A., *Endothelial function and clinical outcome.* Heart, 2005. **91**(10): p. 1278-9.
27. Schachinger, V., M.B. Britten, and A.M. Zeiher, *Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease.* Circulation, 2000. **101**(16): p. 1899-906.
28. Suwaidi, J.A., et al., *Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction.* Circulation, 2000. **101**(9): p. 948-54.

29. Ross, R., *Rous-Whipple Award Lecture. Atherosclerosis: a defense mechanism gone awry*. Am J Pathol, 1993. **143**(4): p. 987-1002.
30. Libby, P., *Inflammation in atherosclerosis*. Nature, 2002. **420**(6917): p. 868-74.
31. Libby, P., P.M. Ridker, and A. Maseri, *Inflammation and atherosclerosis*. Circulation, 2002. **105**(9): p. 1135-43.
32. Blake, G.J. and P.M. Ridker, *Inflammatory bio-markers and cardiovascular risk prediction*. J Intern Med, 2002. **252**(4): p. 283-94.
33. Lucas, A.D. and D.R. Greaves, *Atherosclerosis: role of chemokines and macrophages*. Expert Rev Mol Med, 2001. **2001**: p. 1-18.
34. Davies, M.J., *A macro and micro view of coronary vascular insult in ischemic heart disease*. Circulation, 1990. **82**(3 Suppl): p. II38-46.
35. Léoni, J., *Physiopathologie de l'athérosclérose-Mécanismes et prévention de l'athérombose*, in UFR de Pharmacie. 2001, Université de Franche-Comté: Besançon-France.
36. Mulvihill, N.T. and J.B. Foley, *Inflammation in acute coronary syndromes*. Heart, 2002. **87**(3): p. 201-4.
37. Davies, M.J., *The composition of coronary-artery plaques*. N Engl J Med, 1997. **336**(18): p. 1312-4.
38. Warner, S.J. and P. Libby, *Human vascular smooth muscle cells. Target for and source of tumor necrosis factor*. J Immunol, 1989. **142**(1): p. 100-9.
39. Ng, S.B., Y.H. Tan, and G.R. Guy, *Differential induction of the interleukin-6 gene by tumor necrosis factor and interleukin-1*. J Biol Chem, 1994. **269**(29): p. 19021-7.
40. Davies, M.J., *The pathophysiology of acute coronary syndromes*. Heart, 2000. **83**(3): p. 361-6.
41. *Nomenclature and criteria for diagnosis of ischemic heart disease. Report of the Joint International Society and Federation of Cardiology/World Health Organization task force on standardization of clinical nomenclature*. Circulation, 1979. **59**(3): p. 607-9.
42. Abrams, J., *Clinical practice. Chronic stable angina*. N Engl J Med, 2005. **352**(24): p. 2524-33.
43. Achar, S.A., S. Kundu, and W.A. Norcross, *Diagnosis of acute coronary syndrome*. Am Fam Physician, 2005. **72**(1): p. 119-26.

44. Antman, E.M., *Decision making with cardiac troponin tests*. N Engl J Med, 2002. **346**(26): p. 2079-82.
45. Hirschfield, G.M. and M.B. Pepys, *C-reactive protein and cardiovascular disease: new insights from an old molecule*. Qjm, 2003. **96**(11): p. 793-807.
46. Pepys, M.B. and G.M. Hirschfield, *C-reactive protein: a critical update*. J Clin Invest, 2003. **111**(12): p. 1805-12.
47. Kushner, I., *The phenomenon of the acute phase response*. Ann N Y Acad Sci, 1982. **389**: p. 39-48.
48. Saadeddin, S.M., M.A. Habbab, and G.A. Ferns, *Markers of inflammation and coronary artery disease*. Med Sci Monit, 2002. **8**(1): p. RA5-12.
49. Haverkate, F., et al., *Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group*. Lancet, 1997. **349**(9050): p. 462-6.
50. Ramadori, G. and B. Christ, *Cytokines and the hepatic acute-phase response*. Semin Liver Dis, 1999. **19**(2): p. 141-55.
51. Cecilian, F., A. Giordano, and V. Spagnolo, *The systemic reaction during inflammation: the acute-phase proteins*. Protein Pept Lett, 2002. **9**(3): p. 211-23.
52. Burger, D. and J.M. Dayer, *Cytokines, acute-phase proteins, and hormones: IL-1 and TNF-alpha production in contact-mediated activation of monocytes by T lymphocytes*. Ann N Y Acad Sci, 2002. **966**: p. 464-73.
53. Paoletti, R., A.M. Gotto, Jr., and D.P. Hajjar, *Inflammation in atherosclerosis and implications for therapy*. Circulation, 2004. **109**(23 Suppl 1): p. III20-6.
54. Fey, G.H. and J. Gauldie, *The acute phase response of the liver in inflammation*. Prog Liver Dis, 1990. **9**: p. 89-116.
55. Li, J.J. and C.H. Fang, *C-reactive protein is not only an inflammatory marker but also a direct cause of cardiovascular diseases*. Med Hypotheses, 2004. **62**(4): p. 499-506.
56. Du Clos, T.W., *Function of C-reactive protein*. Ann Med, 2000. **32**(4): p. 274-8.
57. Ridker, P.M., et al., *Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men*. N Engl J Med, 1997. **336**(14): p. 973-9.

58. Rost, N.S., et al., *Plasma concentration of C-reactive protein and risk of ischemic stroke and transient ischemic attack: the Framingham study*. Stroke, 2001. **32**(11): p. 2575-9.
59. Maksimowicz-McKinnon, K., D.L. Bhatt, and L.H. Calabrese, *Recent advances in vascular inflammation: C-reactive protein and other inflammatory biomarkers*. Curr Opin Rheumatol, 2004. **16**(1): p. 18-24.
60. Mendall, M.A., et al., *C-reactive protein: relation to total mortality, cardiovascular mortality and cardiovascular risk factors in men*. Eur Heart J, 2000. **21**(19): p. 1584-90.
61. Mendall, M.A., et al., *C reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors: a population based cross sectional study*. Bmj, 1996. **312**(7038): p. 1061-5.
62. Labarrere, C.A. and G.P. Zaloga, *C-reactive protein: from innocent bystander to pivotal mediator of atherosclerosis*. Am J Med, 2004. **117**(7): p. 499-507.
63. de Beer, F.C., et al., *Measurement of serum C-reactive protein concentration in myocardial ischaemia and infarction*. Br Heart J, 1982. **47**(3): p. 239-43.
64. Danesh, J., et al., *Low grade inflammation and coronary heart disease: prospective study and updated meta-analyses*. Bmj, 2000. **321**(7255): p. 199-204.
65. Fichtlscherer, S., et al., *Elevated C-reactive protein levels and impaired endothelial vasoreactivity in patients with coronary artery disease*. Circulation, 2000. **102**(9): p. 1000-6.
66. Verma, S., et al., *A self-fulfilling prophecy: C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis*. Circulation, 2002. **106**(8): p. 913-9.
67. Venugopal, S.K., et al., *Demonstration that C-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells*. Circulation, 2002. **106**(12): p. 1439-41.
68. Pasceri, V., J.T. Willerson, and E.T. Yeh, *Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells*. Circulation, 2000. **102**(18): p. 2165-8.
69. Cermak, J., et al., *C-reactive protein induces human peripheral blood monocytes to synthesize tissue factor*. Blood, 1993. **82**(2): p. 513-20.
70. Bach, R.R., *Initiation of coagulation by tissue factor*. CRC Crit Rev Biochem, 1988. **23**(4): p. 339-68.
71. Whisler, R.L., et al., *Modulation of human monocyte chemotaxis and procoagulant activity by human C-reactive protein (CRP)*. Lymphokine Res, 1986. **5**(3): p. 223-8.

72. Pepys, M.B., et al., *Proinflammatory effects of bacterial recombinant human C-reactive protein are caused by contamination with bacterial products, not by C-reactive protein itself*. *Circ Res*, 2005. **97**(11): p. e97-103.
73. Koenig, W., et al., *C-Reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men: results from the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992*. *Circulation*, 1999. **99**(2): p. 237-42.
74. Cosin-Sales, J., et al., *C-reactive protein, clinical presentation, and ischemic activity in patients with chest pain and normal coronary angiograms*. *J Am Coll Cardiol*, 2003. **41**(9): p. 1468-74.
75. Kushner, I., M.L. Broder, and D. Karp, *Control of the acute phase response. Serum C-reactive protein kinetics after acute myocardial infarction*. *J Clin Invest*, 1978. **61**(2): p. 235-42.
76. Griselli, M., et al., *C-reactive protein and complement are important mediators of tissue damage in acute myocardial infarction*. *J Exp Med*, 1999. **190**(12): p. 1733-40.
77. Heinrich, P.C., J.V. Castell, and T. Andus, *Interleukin-6 and the acute phase response*. *Biochem J*, 1990. **265**(3): p. 621-36.
78. Mendall, M.A., et al., *Relation of serum cytokine concentrations to cardiovascular risk factors and coronary heart disease*. *Heart*, 1997. **78**(3): p. 273-7.
79. Kerr, R., D. Stirling, and C.A. Ludlam, *Interleukin 6 and haemostasis*. *Br J Haematol*, 2001. **115**(1): p. 3-12.
80. Harris, T.B., et al., *Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly*. *Am J Med*, 1999. **106**(5): p. 506-12.
81. Ridker, P.M., et al., *Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men*. *Circulation*, 2000. **101**(15): p. 1767-72.
82. Lindmark, E., et al., *Relationship between interleukin 6 and mortality in patients with unstable coronary artery disease: effects of an early invasive or noninvasive strategy*. *Jama*, 2001. **286**(17): p. 2107-13.
83. Park, H.S., J.Y. Park, and R. Yu, *Relationship of obesity and visceral adiposity with serum concentrations of CRP, TNF-alpha and IL-6*. *Diabetes Res Clin Pract*, 2005. **69**(1): p. 29-35.

84. Mohamed-Ali, V., et al., *Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo*. J Clin Endocrinol Metab, 1997. **82**(12): p. 4196-200.
85. Alam, S.E., et al., *Cytokine imbalance in acute coronary syndrome*. Curr Opin Pharmacol, 2004. **4**(2): p. 166-70.
86. Blankenberg, S., et al., *Interleukin-18 is a strong predictor of cardiovascular death in stable and unstable angina*. Circulation, 2002. **106**(1): p. 24-30.
87. Okamura, H., et al., *Interleukin-18: a novel cytokine that augments both innate and acquired immunity*. Adv Immunol, 1998. **70**: p. 281-312.
88. McInnes, I.B., et al., *Interleukin 18: a pleiotropic participant in chronic inflammation*. Immunol Today, 2000. **21**(7): p. 312-5.
89. Mallat, Z., et al., *Evidence for altered interleukin 18 (IL)-18 pathway in human heart failure*. Faseb J, 2004. **18**(14): p. 1752-4.
90. Trinchieri, G. and F. Gerosa, *Immunoregulation by interleukin-12*. J Leukoc Biol, 1996. **59**(4): p. 505-11.
91. Munder, M., et al., *Murine macrophages secrete interferon gamma upon combined stimulation with interleukin (IL)-12 and IL-18: A novel pathway of autocrine macrophage activation*. J Exp Med, 1998. **187**(12): p. 2103-8.
92. Okamura, H., et al., *Cloning of a new cytokine that induces IFN-gamma production by T cells*. Nature, 1995. **378**(6552): p. 88-91.
93. van der Wal, A.C., et al., *Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterized by an inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology*. Circulation, 1994. **89**(1): p. 36-44.
94. Mallat, Z., et al., *Increased plasma concentrations of interleukin-18 in acute coronary syndromes*. Heart, 2002. **88**(5): p. 467-9.
95. Mallat, Z., et al., *Expression of interleukin-18 in human atherosclerotic plaques and relation to plaque instability*. Circulation, 2001. **104**(14): p. 1598-603.
96. Blankenberg, S., et al., *Interleukin-18 and the risk of coronary heart disease in European men: the Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction (PRIME)*. Circulation, 2003. **108**(20): p. 2453-9.
97. Klebanoff, S.J., *Myeloperoxidase: friend and foe*. J Leukoc Biol, 2005. **77**(5): p. 598-625.

98. Zhang, R., et al., *Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease*. *Jama*, 2001. **286**(17): p. 2136-42.
99. Podrez, E.A., H.M. Abu-Soud, and S.L. Hazen, *Myeloperoxidase-generated oxidants and atherosclerosis*. *Free Radic Biol Med*, 2000. **28**(12): p. 1717-25.
100. Harrison, J.E. and J. Schultz, *Studies on the chlorinating activity of myeloperoxidase*. *J Biol Chem*, 1976. **251**(5): p. 1371-4.
101. Hazen, S.L. and J.W. Heinecke, *3-Chlorotyrosine, a specific marker of myeloperoxidase-catalyzed oxidation, is markedly elevated in low density lipoprotein isolated from human atherosclerotic intima*. *J Clin Invest*, 1997. **99**(9): p. 2075-81.
102. Klebanoff, S.J., *Myeloperoxidase*. *Proc Assoc Am Physicians*, 1999. **111**(5): p. 383-9.
103. Eiserich, J.P., et al., *Myeloperoxidase, a leukocyte-derived vascular NO oxidase*. *Science*, 2002. **296**(5577): p. 2391-4.
104. Sugiyama, S., et al., *Macrophage myeloperoxidase regulation by granulocyte macrophage colony-stimulating factor in human atherosclerosis and implications in acute coronary syndromes*. *Am J Pathol*, 2001. **158**(3): p. 879-91.
105. Baldus, S., et al., *Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes*. *Circulation*, 2003. **108**(12): p. 1440-5.
106. Brennan, M.L., et al., *Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain*. *N Engl J Med*, 2003. **349**(17): p. 1595-604.
107. Hazell, L.J., et al., *Presence of hypochlorite-modified proteins in human atherosclerotic lesions*. *J Clin Invest*, 1996. **97**(6): p. 1535-44.
108. Morris, J.N., et al., *Vigorous exercise in leisure-time: protection against coronary heart disease*. *Lancet*, 1980. **2**(8206): p. 1207-10.
109. Folsom, A.R., et al., *Physical activity and incidence of coronary heart disease in middle-aged women and men*. *Med Sci Sports Exerc*, 1997. **29**(7): p. 901-9.
110. Berlin, J.A. and G.A. Colditz, *A meta-analysis of physical activity in the prevention of coronary heart disease*. *Am J Epidemiol*, 1990. **132**(4): p. 612-28.
111. Haapanen, N., et al., *Association of leisure time physical activity with the risk of coronary heart disease, hypertension and diabetes in middle-aged men and women*. *Int J Epidemiol*, 1997. **26**(4): p. 739-47.

112. Abramson, J.L. and V. Vaccarino, *Relationship between physical activity and inflammation among apparently healthy middle-aged and older US adults*. Arch Intern Med, 2002. **162**(11): p. 1286-92.
113. Wannamethee, S.G., et al., *Physical activity and hemostatic and inflammatory variables in elderly men*. Circulation, 2002. **105**(15): p. 1785-90.
114. Goldhammer, E., et al., *Exercise training modulates cytokines activity in coronary heart disease patients*. Int J Cardiol, 2005. **100**(1): p. 93-9.
115. Colbert, L.H., et al., *Physical activity, exercise, and inflammatory markers in older adults: findings from the Health, Aging and Body Composition Study*. J Am Geriatr Soc, 2004. **52**(7): p. 1098-104.
116. Fried, S.K., D.A. Bunkin, and A.S. Greenberg, *Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid*. J Clin Endocrinol Metab, 1998. **83**(3): p. 847-50.
117. Spiegelman, B.M. and J.S. Flier, *Adipogenesis and obesity: rounding out the big picture*. Cell, 1996. **87**(3): p. 377-89.
118. Northoff, H., C. Weinstock, and A. Berg, *The cytokine response to strenuous exercise*. Int J Sports Med, 1994. **15 Suppl 3**: p. S167-71.
119. Sprenger, H., et al., *Enhanced release of cytokines, interleukin-2 receptors, and neopterin after long-distance running*. Clin Immunol Immunopathol, 1992. **63**(2): p. 188-95.
120. Gaspardone, A., et al., *Exercise induced myocardial ischaemia does not cause increase in C-reactive protein concentration*. Heart, 2000. **84**(6): p. 668A-69.
121. Shehadeh, J., et al., *Relation between C-reactive protein, treadmill exercise testing, and inducible myocardial ischemia*. Am J Cardiol, 2004. **93**(5): p. 614-7.
122. Ostrowski, K., et al., *Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans*. J Physiol, 1999. **515 (Pt 1)**: p. 287-91.
123. Ostrowski, K., et al., *A trauma-like elevation of plasma cytokines in humans in response to treadmill running*. J Physiol, 1998. **513 (Pt 3)**: p. 889-94.
124. Bruunsgaard, H., et al., *Exercise-induced increase in serum interleukin-6 in humans is related to muscle damage*. J Physiol, 1997. **499 (Pt 3)**: p. 833-41.
125. Ostrowski, K., et al., *Evidence that interleukin-6 is produced in human skeletal muscle during prolonged running*. J Physiol, 1998. **508 (Pt 3)**: p. 949-53.

126. Steensberg, A., et al., *Production of interleukin-6 in contracting human skeletal muscles can account for the exercise-induced increase in plasma interleukin-6*. J Physiol, 2000. **529 Pt 1**: p. 237-42.
127. Tsigos, C., et al., *Dose-dependent effects of recombinant human interleukin-6 on glucose regulation*. J Clin Endocrinol Metab, 1997. **82(12)**: p. 4167-70.
128. Steensberg, A., et al., *Interleukin-6 production in contracting human skeletal muscle is influenced by pre-exercise muscle glycogen content*. J Physiol, 2001. **537(Pt 2)**: p. 633-9.
129. Kinugawa, T., et al., *Interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha levels increase in response to maximal exercise in patients with chronic heart failure*. Int J Cardiol, 2003. **87(1)**: p. 83-90.
130. Neumayr, G., et al., *The impact of prolonged strenuous endurance exercise on interleukin 18 and interleukin 18 binding protein in recreational cyclists*. Int J Sports Med, 2005. **26(10)**: p. 836-40.
131. Shephard, R.J. and P.N. Shek, *Potential impact of physical activity and sport on the immune system--a brief review*. Br J Sports Med, 1994. **28(4)**: p. 247-55.
132. Bury, T.B. and F. Pirnay, *Effect of prolonged exercise on neutrophil myeloperoxidase secretion*. Int J Sports Med, 1995. **16(6)**: p. 410-2.
133. Morozov, V.I., et al., *Effect of exercise to exhaustion on myeloperoxidase and lysozyme release from blood neutrophils*. Eur J Appl Physiol, 2003. **89(3-4)**: p. 257-62.
134. Gray, A.B., et al., *Granulocyte activation induced by intense interval running*. J Leukoc Biol, 1993. **53(5)**: p. 591-7.
135. Camus, G., et al., *Plasma levels of polymorphonuclear elastase and myeloperoxidase after uphill walking and downhill running at similar energy cost*. Int J Sports Med, 1992. **13(6)**: p. 443-6.
136. Quindry, J.C., et al., *The effects of acute exercise on neutrophils and plasma oxidative stress*. Med Sci Sports Exerc, 2003. **35(7)**: p. 1139-45.
137. Sjodin, B., Y. Hellsten Westing, and F.S. Apple, *Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise*. Sports Med, 1990. **10(4)**: p. 236-54.
138. Lovlin, R., et al., *Are indices of free radical damage related to exercise intensity*. Eur J Appl Physiol Occup Physiol, 1987. **56(3)**: p. 313-6.

139. Sorichter, S., B. Puschendorf, and J. Mair, *Skeletal muscle injury induced by eccentric muscle action: muscle proteins as markers of muscle fiber injury*. *Exerc Immunol Rev*, 1999. **5**: p. 5-21.
140. Toft, A.D., et al., *Cytokine response to eccentric exercise in young and elderly humans*. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2002. **283**(1): p. C289-95.
141. Friden, J. and R.L. Lieber, *Structural and mechanical basis of exercise-induced muscle injury*. *Med Sci Sports Exerc*, 1992. **24**(5): p. 521-30.
142. Mair, J., et al., *Effects of exercise on plasma myosin heavy chain fragments and MRI of skeletal muscle*. *J Appl Physiol*, 1992. **72**(2): p. 656-63.
143. Rodenburg, J.B., P.R. Bar, and R.W. De Boer, *Relations between muscle soreness and biochemical and functional outcomes of eccentric exercise*. *J Appl Physiol*, 1993. **74**(6): p. 2976-83.
144. Juonala, M., et al., *Interrelations between brachial endothelial function and carotid intima-media thickness in young adults: the cardiovascular risk in young Finns study*. *Circulation*, 2004. **110**(18): p. 2918-23.
145. Bots, M.L., et al., *Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study*. *Circulation*, 1997. **96**(5): p. 1432-7.
146. Moens, A.L., et al., *Flow-mediated vasodilation: a diagnostic instrument, or an experimental tool?* *Chest*, 2005. **127**(6): p. 2254-63.
147. Vita, J.A. and J.F. Keaney, Jr., *Endothelial function: a barometer for cardiovascular risk?* *Circulation*, 2002. **106**(6): p. 640-2.
148. Sorensen, K.E., et al., *Non-invasive measurement of human endothelium dependent arterial responses: accuracy and reproducibility*. *Br Heart J*, 1995. **74**(3): p. 247-53.
149. Beux, F., et al., *Automatic evaluation of arterial diameter variation from vascular echographic images*. *Ultrasound Med Biol*, 2001. **27**(12): p. 1621-9.
150. Neunteufl, T., et al., *Systemic endothelial dysfunction is related to the extent and severity of coronary artery disease*. *Atherosclerosis*, 1997. **129**(1): p. 111-8.
151. Sorensen, K.E., et al., *Impairment of endothelium-dependent dilation is an early event in children with familial hypercholesterolemia and is related to the lipoprotein(a) level*. *J Clin Invest*, 1994. **93**(1): p. 50-5.
152. Adams, M.R., et al., *Smooth muscle dysfunction occurs independently of impaired endothelium-dependent dilation in adults at risk of atherosclerosis*. *J Am Coll Cardiol*, 1998. **32**(1): p. 123-7.

153. Hijmering, M.L., et al., *Variability of flow mediated dilation: consequences for clinical application*. *Atherosclerosis*, 2001. **157**(2): p. 369-73.
154. Celermajer, D.S., et al., *Passive smoking and impaired endothelium-dependent arterial dilatation in healthy young adults*. *N Engl J Med*, 1996. **334**(3): p. 150-4.
155. Celermajer, D.S., et al., *Aging is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age-related decline in women*. *J Am Coll Cardiol*, 1994. **24**(2): p. 471-6.
156. Celermajer, D.S., et al., *Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis*. *Lancet*, 1992. **340**(8828): p. 1111-5.
157. Goodfellow, J., et al., *Endothelium and inelastic arteries: an early marker of vascular dysfunction in non-insulin dependent diabetes*. *Bmj*, 1996. **312**(7033): p. 744-5.
158. Furumoto, T., et al., *Relationships between brachial artery flow mediated dilation and carotid artery intima-media thickness in patients with suspected coronary artery disease*. *Jpn Heart J*, 2002. **43**(2): p. 117-25.
159. Fathi, R., et al., *The relative importance of vascular structure and function in predicting cardiovascular events*. *J Am Coll Cardiol*, 2004. **43**(4): p. 616-23.
160. Neunteufl, T., et al., *Late prognostic value of flow-mediated dilation in the brachial artery of patients with chest pain*. *Am J Cardiol*, 2000. **86**(2): p. 207-10.
161. Lonn, E., *Use of carotid ultrasound to stratify risk*. *Can J Cardiol*, 2001. **17 Suppl A**: p. 22A-5A.
162. Woodcock, J.P., *Characterisation of the atheromatous plaque in the carotid arteries*. *Clin Phys Physiol Meas*, 1989. **10 Suppl A**: p. 45-9.
163. Lemne, C., T. Jogestrand, and U. de Faire, *Carotid intima-media thickness and plaque in borderline hypertension*. *Stroke*, 1995. **26**(1): p. 34-9.
164. James, E.M., et al., *High-resolution dynamic ultrasound imaging of the carotid bifurcation: a prospective evaluation*. *Radiology*, 1982. **144**(4): p. 853-8.
165. Zweibel, W., *High resolution B-mode and duplex carotid sonography*, in *Introduction to vascular sonography*, W. Zweibel, editor, Editor. 1982, Grune & Stratton: New York. p. 103-109.
166. Pignoli, P., et al., *Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging*. *Circulation*, 1986. **74**(6): p. 1399-406.

167. Veller, M.G., et al., *Measurement of the ultrasonic intima-media complex thickness in normal subjects*. J Vasc Surg, 1993. **17**(4): p. 719-25.
168. Visona, A., et al., *Intimal medial thickening of common carotid artery as indicator of coronary artery disease*. Angiology, 1996. **47**(1): p. 61-6.
169. Salonen, J.T. and R. Salonen, *Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression*. Circulation, 1993. **87**(3 Suppl): p. II56-65.
170. Renton, S., *High resolution ultrasound and arterial wall changes in early atherosclerosis*. 1994, University of London.
171. Salonen, R. and J.T. Salonen, *Progression of carotid atherosclerosis and its determinants: a population-based ultrasonography study*. Atherosclerosis, 1990. **81**(1): p. 33-40.
172. Prati, P., et al., *Prevalence and determinants of carotid atherosclerosis in a general population*. Stroke, 1992. **23**(12): p. 1705-11.
173. Homma, S., et al., *Carotid plaque and intima-media thickness assessed by b-mode ultrasonography in subjects ranging from young adults to centenarians*. Stroke, 2001. **32**(4): p. 830-5.
174. Bonithon-Kopp, C., et al., *Relation of intima-media thickness to atherosclerotic plaques in carotid arteries. The Vascular Aging (EVA) Study*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1996. **16**(2): p. 310-6.
175. O'Leary, D.H., et al., *Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group*. N Engl J Med, 1999. **340**(1): p. 14-22.
176. Croisier, J.L., et al., *Effects of training on exercise-induced muscle damage and interleukin 6 production*. Muscle Nerve, 1999. **22**(2): p. 208-12.
177. Castell, L.M., et al., *Some aspects of the acute phase response after a marathon race, and the effects of glutamine supplementation*. Eur J Appl Physiol Occup Physiol, 1997. **75**(1): p. 47-53.
178. Papanicolaou, D.A., et al., *Exercise stimulates interleukin-6 secretion: inhibition by glucocorticoids and correlation with catecholamines*. Am J Physiol, 1996. **271**(3 Pt 1): p. E601-5.
179. Childs, A., et al., *Supplementation with vitamin C and N-acetyl-cysteine increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise*. Free Radic Biol Med, 2001. **31**(6): p. 745-53.

180. Corretti, M.C., G.D. Plotnick, and R.A. Vogel, *The effects of age and gender on brachial artery endothelium-dependent vasoactivity are stimulus-dependent*. Clin Cardiol, 1995. **18**(8): p. 471-6.
181. Schroeder, S., et al., *Influence of vessel size, age and body mass index on the flow-mediated dilatation (FMD%) of the brachial artery*. Int J Cardiol, 2000. **76**(2-3): p. 219-25.