

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

EFFETS DU STRESS OXYDATIF SUR  
LA VARIABILITÉ DU RYTHME CARDIAQUE

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ COMME

EXIGENCE PARTIELLE DE LA  
MAÎTRISE EN KINANTHROPOLOGIE

PAR

DAVID ANDRICH

AOÛT 2011

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL  
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.01-2006). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

## REMERCIEMENTS

La rédaction d'un mémoire de maîtrise est une entreprise qu'un étudiant pourrait difficilement envisager d'entreprendre sans l'aide et le soutien de certains; c'est la contribution de ces personnes indispensables que je tiens à souligner dans les quelques lignes qui suivent.

En premier lieu, je tiens à remercier mon directeur, Alain Steve Comtois, pour sa confiance, ses conseils et toute son expertise. Ce mémoire n'aurait pu voir le jour sans lui, et je lui en serai à jamais reconnaissant. Je remercie aussi les membres du groupe CINBIOSE qui m'ont permis d'utiliser les données de leur projet, plus particulièrement Donna Mergler, Myriam Fillion et Aline Philibert. Mes remerciements vont aussi à Denis Duhalde, qui m'a donné l'opportunité d'apprendre beaucoup sur le domaine de la recherche. L'aspect financier est aussi indispensable à la poursuite d'études supérieures, c'est pour cette raison que je veux remercier tous les professeurs et chargés de cours pour lesquels j'ai occupé le poste d'auxiliaire d'enseignement, en particulier Zied Haj Hamida et François Taillefer. Ma gratitude est aussi grande envers le Centre Sportif et le département de kinanthropologie de l'UQAM. J'aimerais également remercier Jean P. Boucher de son aide en statistique ainsi que Mylène Aubertin-Leheudre de m'avoir donné la chance d'ajouter une publication à mon curriculum vitae.

D'un point de vue plus personnel, ce projet n'aurait pu aboutir sans la patience et la compréhension de ma conjointe, Marie-Pier Bergeron. Mes études universitaires furent jusqu'à maintenant un long parcours que je n'aurais pu parcourir sans elle et c'est avec enthousiasme que j'entrevois les futures étapes de ma vie en sa compagnie. Je remercie aussi mes parents, les mots ne peuvent décrire toute ma reconnaissance. Merci aussi à toute ma famille, ma belle-famille et Timmy pour leur influence positive. Je remercie tout spécialement Jean-Philippe Laperrière pour ses conseils, ses réflexions et son sens critique inégalé. Un merci à Alex Payette pour son travail

acharné et sa grande ambition qui m'ont servi de motivation. Mes remerciements les plus sincères vont à toutes les personnes m'ayant aidé, encouragé et supporté pour la rédaction de ce mémoire.

## TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS .....	i
TABLE DES MATIÈRES.....	iii
LISTE DES TABLEAUX .....	v
LISTE DES ABRÉVIATIONS ET ACRONYMES .....	vi
RÉSUMÉ.....	x
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I	
PROBLÉMATIQUE .....	3
1.1 Pertinence sociale .....	4
CHAPITRE II	
OBJECTIFS .....	5
CHAPITRE III	
RECENSEMENT DES ÉCRITS.....	6
3.1 Système nerveux autonome .....	6
3.2 Variabilité du rythme cardiaque .....	8
3.2.1 Mesures de la VRC.....	8
3.2.2 Facteurs influant la VRC .....	10
3.2.3 Usages cliniques de la VRC .....	13
3.3 Dérivés réactifs de l’oxygène .....	13
3.3.1 Genèse des DRO.....	14
3.3.2 Effets des DRO .....	16
3.4 Dérivés réactifs de l’azote .....	17
3.5 Antioxydants.....	20
3.6 Stress oxydatif et pathologies.....	23
3.7 Liens inter-variables .....	25
CHAPITRE IV	
MÉTHODOLOGIE .....	27
4.1 Participants .....	27

4.2 Mesures.....	28
4.3 Protocole.....	32
CHAPITRE V STATISTIQUES .....	33
CHAPITRE VI RÉSULTATS.....	34
CHAPITRE VII DISCUSSION.....	52
CONCLUSION .....	59
BIBLIOGRAPHIE.....	60

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Page
4.1 Représentation des variables (N).....	28
5.1 Variables confondantes selon le sexe .....	34
5.2 Catégorie d'âge des participants selon le sexe .....	35
5.3 Catégorie d'IMC des participants selon le sexe .....	35
5.4 Variables confondantes selon la catégorie d'âge.....	36
5.5 Variables confondantes selon la catégorie d'IMC.....	37
5.6 Variables confondantes selon le tabagisme .....	38
5.7 Variables de stress oxydatif selon le sexe .....	38
5.8 Variables de stress oxydatif selon le groupe d'âge.....	39
5.9 Variables de stress oxydatif selon le tabagisme .....	40
5.10 Variables de VRC selon le sexe .....	41
5.11 Variables de VRC selon la catégorie d'âge .....	42
5.12 Variables de VRC selon la catégorie d'IMC .....	43
5.13 Variables de VRC selon le tabagisme .....	44
5.14 Variables de VRC selon l'hypertension .....	45
5.15 Corrélations entre les variables de VRC et le NO .....	46
5.16 Corrélations entre les variables de VRC et le MDA.....	47
5.17 Corrélations entre les variables de VRC et la CAT.....	48
5.18 Corrélations entre les variables de VRC et le GPx.....	49
5.19 Variables incluses dans les facteurs de l'analyse en composantes principales ..	50
5.20 Valeurs propres initiales de l'analyse en composantes principales .....	50
5.21 Matrice des composantes (factor loadings) .....	51
5.22 Corrélations entre les facteurs et les variables de stress oxydatif.....	51

## LISTE DES ABRÉVIATIONS ET ACRONYMES

•OH	Radical hydroxyle
ADMA	Diméthylarginine asymétrique
ADN	Acide désoxyribonucléique
BF	Basses fréquences
BF/HF	Ratio basses fréquences hautes fréquences
BH <sub>4</sub>	Tétrahydrobioptérine
Ca	Calcium
CAT	Catalase
cGMP	Guanosine monophosphate cyclique
CO	Colorado
CO <sub>2</sub>	Dioxyde de carbone
Cu	Cuivre
DRA	Dérivés réactifs de l'azote
DRO	Dérivés réactifs de l'oxygène
EDTA	Acide éthylène diamine tétracétique
eNOS	Oxyde nitrique synthétase endothéliale
FAD	Flavine adénine dinucléotide
Fi	Finlande
FMN	Flavine mononucléotide
g	Gramme



GPx	Glutathion peroxydase
GSH	Glutathion
GSSG	Glutathion disulfide
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peroxyde d'hydrogène
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Acide phosphorique
Hb	Hémoglobine
HDL	Lipoprotéine de haute densité
HF	Hautes fréquences
Hg	Mercure
HO <sub>2</sub>	Radical hydroperoxyde
HPLC	Chromatographie en phase liquide à haute performance
Hz	Hertz
IM	Infarctus du myocarde
IMC	Indice de masse corporelle
iNOS	Oxyde nitrique synthétase inductible
kg	Kilogramme
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Phosphate monopotassique
LDL	Lipoprotéine de basse densité
m	Mètre
MA	Massachusetts
MDA	Malondialdehyde
min	Minute

ml	Millilitre
mm	Millimètre
mM	Millimole
Mn	Manganèse
MO	Missouri
Ms	Millisecondes
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NaOH	Hydroxyde de sodium
nm	Nanomètre
nmol	Nanomole
NN50	Nombre de différences d'intervalles, parmi des intervalles successifs, supérieures à 50 ms
nNOS	Oxyde nitrique synthétase neuronal
NO	Monoxyde d'azote
NOS	Oxyde nitrique synthétase
O <sub>2</sub>	Oxygène
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Superoxyde
°C	Degré Celsius
OMS	Organisation mondiale de la santé
ONOO <sup>-</sup>	Peroxynitrite
pH	Potentiel hydrogène
pNN50	Pourcentage de NN50 par rapport au nombre total d'intervalles normaux

rMSSD	Moyenne quadratique d'intervalles normaux successifs
ROOH	Hydroperoxyde organique
RR	Intervalle entre chaque pic de l'onde R d'un complexe QRS
SDNN	Écart type des intervalles normaux
SNA	Système nerveux autonome
SOD	Superoxyde dismutase
TBF	Très basses fréquences
TFESC	Task Force of The European Society of Cardiology and The North American Society of Pacing and Electrophysiology
UBF	Ultra basses fréquences
UN	Unité normalisée
USA	États-Unis d'Amérique
UV-VIS	Spectroscopie ultraviolet-visible
VRC	Variabilité du rythme cardiaque
Zn	Zinc
$\kappa$	Constante de vitesse de réaction de premier ordre
$\mu\text{g}$	Microgramme
$\mu\text{L}$	Microlitre
$\mu\text{M}$	Micron

## RÉSUMÉ

Le stress oxydatif est impliqué dans la genèse de nombreuses pathologies, dont plusieurs maladies cardiaques et circulatoires. De par l'action du monoxyde d'azote, ainsi que des dérivés réactifs de l'oxygène et des antioxydants influençant sa biodisponibilité, sur le système nerveux autonome, le stress oxydatif peut induire certaines pathologies de par son influence sur les fonctions autonomes cardiaques. D'autre part, la variabilité du rythme cardiaque (VRC), une mesure fiable et non invasive, peut facilement être utilisée pour mesurer l'activité du système nerveux autonome au niveau cardiaque. L'objectif de cette étude était d'explorer les liens entre les valeurs de stress oxydatif et de variabilité du rythme cardiaque, par une analyse a posteriori, dans le but de mieux comprendre leurs interactions.

Des valeurs de variabilité du rythme cardiaque ont été mesurées sur 270 participants recrutés dans six communautés ripariennes de l'Amazonie au Brésil. Des valeurs de monoxyde d'azote, de malondialdéhyde, de catalase et de glutathion peroxydase ont aussi été recueillies, en plus de la pression artérielle, du rythme cardiaque et de l'indice de masse corporelle.

Nous avons pu observer de faibles corrélations inverses significatives entre le monoxyde d'azote et le SDNN ( $r = -0,219$   $p = 0,006$ ), les basses fréquences ( $ms^2$ ) ( $r = -0,181$   $p = 0,024$ ) et les très basses fréquences ( $r = -0,201$   $p = 0,012$ ) de l'analyse de VRC. Nous avons aussi pu observer une faible corrélation significative entre le malondialdéhyde et les très basses fréquences ( $r = 0,140$   $p = 0,032$ ). Nous n'avons pu observer aucune corrélation significative entre la catalase, le glutathion peroxydase et les valeurs de VRC.

Les résultats ne permettent pas d'atteindre les objectifs fixés, malgré la démonstration de certaines corrélations. L'étude des interactions entre le stress oxydatif demeure toutefois pertinente et des études expérimentales sur une population homogène seraient intéressantes.

Mots-clés : stress oxydatif, variabilité du rythme cardiaque, antioxydants, monoxyde d'azote, système nerveux autonome

## INTRODUCTION

Les réactions d'oxydation et d'oxydoréduction sont nombreuses dans l'organisme et sont à l'origine de plusieurs mécanismes biochimiques (Valko *et al.*, 2006). Lorsqu'un déséquilibre entre les dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) et l'habilité des systèmes biologiques à réduire, par oxydoréduction, ces dérivés se produit, il y a apparition de stress oxydatif (Kohen et Nyska, 2002). Le stress oxydatif est relié à la formation de plusieurs pathologies. Il a été démontré qu'il contribue grandement aux mécanismes responsables de l'hypertension (Lassegue et Griendling, 2004), le facteur de risque de maladies cardiaques le plus important mondialement (Yusuf *et al.*, 2004). Il joue aussi un rôle important dans la formation de l'athérosclérose (Bonomini *et al.*, 2008), une obstruction des artères pouvant mener à des complications telles l'infarctus et l'anévrisme. Le stress oxydatif est aussi impliqué dans le développement de l'insuffisance rénale aiguë (Himmelfarb *et al.*, 2004), du syndrome métabolique (Furukawa *et al.*, 2004), du diabète (Maritim, Sanders et Watkins, 2003), de la stéatohépatite non alcoolique (Videla *et al.*, 2004) et du glaucome (Kumar et Agarwal, 2007). Outre son rôle dans ces pathologies, le stress oxydatif est un des facteurs principaux dans la pathogenèse de maladies neurodégénératives importantes, tels le Parkinson et l'Alzheimer (Coyle et Puttfarcken, 1993).

L'influence des dérivés réactifs de l'oxygène sur le système nerveux autonome, particulièrement au niveau du cœur, a aussi été démontrée (Danson et Paterson, 2006). Faisant partie du système nerveux périphérique, le système nerveux autonome (SNA) contrôle diverses fonctions du cœur, du système sanguin périphérique, nerveux, respiratoire, digestif, endocrinien, urinaire, reproductif et tégumentaire. Le SNA est divisé en deux branches : les systèmes nerveux sympathique et parasympathique. Complémentaires, ces deux systèmes contribuent à maintenir l'homéostasie (Dorland, 2007). Un déséquilibre entre les deux composantes du

système nerveux autonome est associé à plusieurs pathologies cardiaques, incluant la mort subite cardiaque (Lown et Verrier, 1976), (Schwartz, 1981), (Levy et Schwartz, 1994). La littérature démontre que le stress oxydatif participe au processus menant à l'insuffisance cardiaque en stimulant la composante sympathique du SNA (Lindley *et al.*, 2004).

Pour mesurer l'activité du système nerveux autonome au niveau du cœur, la variabilité du rythme cardiaque (VRC) est une méthode non invasive fiable et reproductible (Sztajzel, 2004). En utilisant un électrocardiogramme ou un cardiofréquencemètre, il est possible d'obtenir des valeurs temporelles et spectrales indiquant l'activité des systèmes nerveux sympathique et parasympathique (TFESC, 1996). La VRC peut indiquer un déséquilibre entre les deux composantes du SNA ou une inhibition d'une des deux branches (Malliani, Lombardi et Pagani, 1994). En interprétant ces données, il est possible de prédire des symptômes ou maladies futures, entre autres chez une population ayant été victime d'un infarctus (Quintana *et al.*, 1997).

À l'aide de la variabilité du rythme cardiaque, mesure fiable de l'activité du système nerveux autonome au niveau du cœur (Sztajzel, 2004), il peut être possible de déceler une influence du stress oxydatif, exprimé par des biomarqueurs spécifiques, sur le SNA. La présente étude, a pour but de vérifier les associations possibles entre le stress oxydatif et la variabilité du rythme cardiaque. À la suite de la problématique et de la présentation des objectifs suivra un recensement des écrits sur les dérivés réactifs de l'oxygène et la variabilité du rythme cardiaque. Seront ensuite présentés la méthodologie, les résultats et la discussion.

## I. PROBLÉMATIQUE

Selon les plus récentes statistiques de l'Organisation mondiale de la santé, les maladies cardiaques sont la principale cause de mortalité chez la population adulte, et ce, mondialement (OMS, 2004). On prédit aussi que les maladies cardiaques seront la cause principale de mortalité dans la majorité des pays dans les prochaines années (Lopez et Murray, 1998). Tout comme l'hypertension et l'athérosclérose, il a été démontré, dans les deux dernières décennies, qu'une dysfonction du système nerveux autonome est un facteur de risque important de maladies cardiovasculaires (Lown et Verrier, 1976), (Schwartz, 1981), (Levy et Schwartz, 1994). Une telle dysfonction peut être le résultat de plusieurs pathologies : un infarctus du myocarde (Casolo *et al.*, 1992), de l'insuffisance cardiaque (Nolan *et al.*, 1992) ou une neuropathie découlant du diabète (Pagani *et al.*, 1988). Déjà mise en cause dans la pathogenèse de plusieurs maladies (Rodrigo, 2009), l'importance du stress oxydatif dans la dysfonction du SNA n'a été que très peu étudiée, et ce, malgré le rôle connu des dérivés réactifs de l'oxygène dans la régulation du système nerveux autonome (Danson et Paterson, 2006). Dans le but d'étudier les mécanismes d'action du stress oxydatif sur le système nerveux autonome et avant même d'établir un lien de causalité, il est primordial d'établir un lien corrélationnel entre les deux variables. La démonstration d'un tel lien ne serait qu'une première étape dans l'étude des effets du stress oxydatif et de ses effets néfastes sur le système nerveux autonome au niveau cardiaque. Étant donné le grand nombre de victimes de maladies cardiaques annuellement, et ce, dans toutes les régions du globe, l'étude des causes de ces pathologies revêt une importance majeure. Une meilleure connaissance de la pathogenèse de ces maladies est la première étape vers de meilleurs traitements, une prévention plus efficace et un meilleur pronostic de santé globale.

### **1.1 Pertinence sociale**

Tel que mentionné précédemment, les maladies cardiaques sont la principale cause de mortalité mondialement chez une population adulte et continueront de l'être pour plusieurs années à venir (OMS, 2004). Le stress oxydatif est impliqué dans la pathogenèse de plusieurs maladies, mais les mécanismes complets entourant ses actions sont encore méconnus (Rodrigo, 2009). Toutefois, plusieurs études ont démontré son rôle dans la formation de maladies cardiaques et ses actions sur le système nerveux autonome (Danson et Paterson, 2006). À l'aide de la variabilité du rythme cardiaque, une mesure peu dispendieuse, fiable et non invasive, il est possible de mesurer l'activité des sous-systèmes sympathique et parasympathique du système nerveux autonome pour ensuite observer les modulations corrélant avec les biomarqueurs de stress oxydatif. Le fait de démontrer un tel lien corrélationnel permettra sans doute une recherche plus approfondie sur les effets du stress oxydatif sur le SNA au niveau cardiaque, ce qui, ultimement, améliorera la compréhension, la prévention et le traitement des maladies cardiaques.



## II. OBJECTIFS

Pour cette étude, l'objectif est de démontrer qu'un stress oxydatif élevé, exprimé au moyen du biomarqueur malondialdéhyde (MDA), corrèle avec des composantes temporelles de la VRC (SDNN, RMSSD, pNN50) plus basses. D'autre part, des mesures élevées d'antioxydants mesurés, soit le glutathion peroxydase (GPx) et la catalase (CAT), doivent corrélérer avec des valeurs temporelles de la VRC plus élevées. La présence accrue d'oxyde nitrique (NO) doit corrélérer avec une valeur plus élevée des hautes fréquences (HF), qui sont une composante spectrale de la VRC et un indicateur de l'activité du système nerveux parasympathique (Chowdhary et Townend, 1999) (Conlon et Kidd, 1999). Cette augmentation des HF doit avoir pour effet de diminuer le ratio de basses fréquences sur hautes fréquences (BF/HF), un indicateur de l'équilibre sympathovagal.

### III. RECENSEMENT DES ÉCRITS

Dans le but de mieux comprendre les concepts entourant la VRC et le stress oxydatif, certaines notions seront approfondies dans cette section.

#### **3.1 Système nerveux autonome**

Aussi appelé système nerveux involontaire, viscéral ou végétatif, le système nerveux autonome fait partie du système nerveux périphérique. Son rôle principal est le contrôle des fonctions involontaires des fibres musculaires lisses, des fibres musculaires cardiaques et des glandes. Divisé en deux branches principales, soit les sous-systèmes sympathique et parasympathique, il est grandement responsable de l'homéostasie par la régulation constante des deux branches. Au niveau cardiaque, une augmentation de l'activité sympathique provoquera une augmentation de la fréquence cardiaque, du volume systolique et de la dilatation des artères coronaires. Inversement, une augmentation de la stimulation parasympathique entraînera un ralentissement de la fréquence cardiaque.

Les modulations cardiaques dues au SNA ont comme origine des données mécaniques et, de façon moins importante, des données chimiques. Les barorécepteurs (mécanorécepteurs) sont situés dans le cœur et les gros vaisseaux sanguins, notamment dans le sinus carotidien, renflement situé dans l'artère carotide interne. Les terminaisons nerveuses de ces récepteurs sont activées par les modulations de pression artérielle. Les chémorécepteurs sont situés dans le glomus carotidien et dans l'aorte et sont sensibles à la pression partielle d'oxygène et de CO<sub>2</sub> sanguin. Empruntant les nerfs glossopharyngien (IX) et vague (X), les afférences des deux types de récepteurs, en passant par le noyau du faisceau solitaire, transmettent leurs informations jusqu'à l'hypothalamus et aux noyaux du tronc cérébral.

Le sous-système sympathique a pour origine la moelle thoracique moyenne (T1-T5). Les neurones préganglionnaires libèrent de l'acétylcholine jusqu'aux neurones

postganglionnaires situés dans le ganglion cervical supérieur et dans les ganglions thoraciques supérieurs. Les neurones postganglionnaires libèrent ensuite de la noradrénaline vers les récepteurs adrénergiques ( $\beta_1$ ) du muscle cardiaque ( $\beta_2$  lorsqu'il est question du système périphérique). Cette activité est augmentée lors d'une baisse de la pression artérielle détectée par les barorécepteurs; survient conjointement une inhibition du sous-système parasympathique. Une hausse de la pression artérielle entrainera le processus inverse, soit une inhibition du sous-système sympathique et une stimulation accrue du parasympathique. Ce sous-système a comme origine le noyau moteur dorsal du vague, à partir duquel les neurones préganglionnaires libèrent de l'acétylcholine jusqu'aux neurones postganglionnaires situés dans le plexus cardiaque. Ces derniers libèrent aussi de l'acétylcholine vers les récepteurs muscariniques ( $M_2$ ) du cœur. S'en suivent un ralentissement du rythme cardiaque et une baisse de la pression artérielle (Appenzeller, 1997). Au repos, l'influence du sous-système parasympathique domine (Levy, 1971); celui-ci est responsable de la majorité des variations du rythme cardiaque (Chess, Tam et Calaresu, 1975).

Un dérèglement du SNA au niveau cardiaque est lié à plusieurs pathologies telles l'hypertension et l'insuffisance cardiaque. Une activité trop importante du sous-système sympathique et amoindrie au niveau parasympathique est une cause importante d'arythmie cardiaque (Danson et Paterson, 2006). Plusieurs phénomènes peuvent expliquer ces dérèglements. Au niveau sympathique, il a été démontré que la réceptivité du muscle cardiaque aux catécholamines (adrénaline et noradrénaline) est altérée lors de maladies cardiaques (Ziolo *et al.*, 2004). Les bêtabloquants, qui agissent comme antagonistes des récepteurs adrénergiques, sont une médication antiarythmique bien connue (Rosenfeld, Rosen et Hoffman, 1978), ce qui démontre l'importance de l'inhibition d'un sous-système sympathique hyperactif dans la prévention de l'arythmie. Le lien entre un dérèglement du sous-système parasympathique et la mortalité due à l'arythmie cardiaque a été démontré (Kleiger *et*

*al.*, 1987). Outre la modification de la réceptivité du muscle cardiaque à l'acétylcholine (Vatner *et al.*, 1996), phénomène observé lors de l'insuffisance cardiaque, le dérèglement vagal peut s'expliquer par une perte de sensibilité du baroréflexe (La Rovere *et al.*, 1998). La stimulation du nerf vague durant une ischémie cardiaque tend à réduire l'arythmie cardiaque (Vanoli *et al.*, 1991), ce qui démontre l'importance du sous-système parasympathique dans le bon fonctionnement de l'appareil cardiaque. De plus, l'activation du parasympathique est aussi antiarythmique lors d'une trop grande activation du sous-système sympathique (Corr et Gillis, 1974).

### **3.2 Variabilité du rythme cardiaque**

La variabilité du rythme cardiaque (VRC) est la mesure de l'oscillation des intervalles mesurés entre chaque battement cardiaque, plus précisément entre chaque pic de l'onde R d'un complexe QRS (de l'onde d'un électrocardiogramme). Mesure étudiée, entre autres, par Sayers dans les années soixante-dix (Sayers, 1973), son importance clinique a été confirmée vers la fin des années quatre-vingt, alors qu'il a été démontré qu'elle était une prédictrice de mortalité suivant un infarctus du myocarde (Malik *et al.*, 1989). Outre ses multiples applications, la VRC est une mesure fiable et reproductible de l'activité du SNA (Sztajzel, 2004). En plus de développer sur les autres phénomènes physiologiques pouvant l'influencer, les mesures et usages cliniques de la VRC seront explorés plus en détail dans cette section.

#### **3.2.1 Mesures de la VRC**

La VRC peut être mesurée de plusieurs façons; les deux méthodes les plus utilisées sont cependant les analyses sur le domaine de temps et sur le domaine de fréquence, ou spectral. Les analyses temporelles sont souvent faites à partir de données recueillies lors d'enregistrement de 24 heures, mais sont aussi valides avec des enregistrements plus courts de 5 minutes ou plus. Il est important de mentionner que

la variance totale varie selon la longueur de l'enregistrement (Saul *et al.*, 1988), l'analyse des données temporelles n'est donc pas valide si deux enregistrements de durées différentes sont comparés. La variable temporelle la plus courante est le SDNN (Standard Deviation of the NN interval), l'écart type des intervalles NN (intervalles RR normalisés), équivalent à la racine carrée de la variance (TFESC, 1996). Il est à noter que la variance est l'équivalent du Total Power (puissance totale) de l'analyse spectrale, qui sera considérablement réduite lors d'une activation sympathique. Le RMSSD (square Root of the Mean Squared Differences of Successive NN intervals) est la moyenne quadratique d'intervalles NN successifs. Le NN50 est le nombre de différences d'intervalles, parmi des intervalles successifs, supérieures à 50 ms (TFESC, 1996). Le pNN50 est le pourcentage de NN50 par rapport au nombre total de NN. Le SDNN et le RMSSD s'expriment en ms (millisecondes), alors que le NN50 s'exprime en nombre absolu et le pNN50 en pourcentage. Le SDNN donne une représentation globale de la VRC, alors que le RMSSD, le NN50 et le pNN50 corréleront fortement avec la valeur de hautes fréquences (HF) du domaine spectral qui est indicatrice de l'activité parasympathique (TFESC, 1996).

Les variables de fréquence, ou spectrales, sont obtenues en appliquant la transformée de Fourier à une série d'intervalles NN. Pour obtenir ces variables, les enregistrements sont préférablement courts, habituellement 5 minutes. Les fréquences recueillies sont : les très basses fréquences (TBF ou VLF, very low frequencies), qui sont inférieures à 0,04 Hz, les basses fréquences (BF ou LF, low frequencies), étant comprises entre 0,04 et 0,15 Hz et les hautes fréquences (HF) comprises entre 0,15 et 0,4 Hz (TFESC, 1996). Des enregistrements de longue durée, habituellement 24 heures, permettent aussi l'analyse des ultras basses fréquences (UBF ou ULF, ultra low frequencies) étant toutes les fréquences inférieures à 0,0033 Hz (TFESC, 1996). Les variables les plus analysées sont les BF, qui sont indicatrices de l'activité sympathique et parasympathique, les HF, qui sont indicatrices de l'activité

parasympathique, et le ratio BF/HF qui est indicateur de la balance sympathovagale; toutes ces variables sont exprimées en  $ms^2$ . Les BF et HF peuvent aussi être exprimées en unités normalisées suivant cette équation :  $BF \text{ (ou HF)} / (\text{Total Power} - \text{TBF}) \times 100$ . L'expression des basses et hautes fréquences en unités normalisées permet de mieux étudier les variations des deux sous-systèmes du SNA. En effet, les BF ont tendance à diminuer (en valeurs absolues) lors d'épisodes de tachycardie (comme à l'exercice), il est toutefois possible d'observer qu'elles augmentent lorsqu'exprimées en unités normalisées, ce qui reflète bien l'influence du sous-système sympathique (TFESC, 1996). Étant donné que la VRC est indicatrice des modulations du SNA, et non de son activité absolue, une suractivation du sous-système sympathique aura le même effet qu'un retrait du SNA, soit une diminution de la VRC (Malik et Camm, 1993).

### 3.2.2 Facteurs influant la VRC

Plusieurs facteurs peuvent influencer les valeurs de VRC. Un de ces principaux facteurs est la présence d'une pathologie, qu'elle soit cardiaque ou non. La plus documentée des pathologies influant sur le SNA est l'infarctus du myocarde. En effet, des études menées sur des participants ayant survécu à un infarctus du myocarde (post-IM) ont démontré une baisse de la puissance totale de l'analyse spectrale, ainsi qu'une baisse de toutes les fréquences (Bigger *et al.*, 1991). Ce phénomène pourrait s'expliquer par la perte de sensibilité des cellules du nœud sinusal aux afférences du SNA (Malliani, Lombardi et Pagani, 1994). En outre, des analyses des valeurs spectrales de BF et HF en unités normalisées après un infarctus ont montré une hausse des BF et une baisse des HF (Lombardi *et al.*, 1992). Les changements créés par l'infarctus du myocarde peuvent causer une distorsion mécanique des terminaisons nerveuses, ce qui modifie à la hausse l'influence des afférences sympathiques sur le nœud sinusal (Malliani, 1982), stimulation qui réduit par le fait même l'activité des fibres parasympathiques. Une diminution de la VRC est aussi observée chez des participants souffrant d'insuffisance cardiaque (Casolo *et al.*,

1989), pathologie où l'on observe une augmentation du rythme cardiaque et un taux élevé de catécholamines, deux signes d'activité sympathique accrue. Les individus ayant subi une transplantation cardiaque montrent une VRC très réduite, ainsi que des composantes spectrales très peu définies, ce qui reflète la ré-innervation cardiaque (Fallen *et al.*, 1988). Les individus souffrant du diabète courent le risque de développer une neuropathie du SNA, pathologie dans laquelle l'analyse spectrale de la VRC montre une diminution des BF et HF, ce qui tend à démontrer l'effet de la neuropathie sur les deux sous-systèmes du SNA (Pagani *et al.*, 1988).

Plusieurs substances chimiques exogènes, la plupart utilisées comme médication pour contrer les effets d'une pathologie cardiaque, ont un effet sur la VRC. Les bêta bloquant sont prescrits pour divers troubles cardiaques, notamment après un infarctus du myocarde et dans les cas d'arythmie et d'hypertension. Ils agissent en tant qu'antagonistes des récepteurs adrénergiques du cœur, limitant donc l'effet de la noradrénaline, neurotransmetteur du sous-système sympathique. Il a été démontré que les BF (unités normalisées) diminuent et que les HF (unités normalisées) augmentent sous l'effet de bêta bloquant chez des participants post-IM (Sandrone *et al.*, 1994). D'autre part, certaines médications antiarythmiques peuvent être néfastes si administrées à des patients post-IM (Wyse *et al.*, 1994), ce qui est en accord avec une étude (Bigger *et al.*, 1994) démontrant une VRC réduite suite à l'administration des drogues antiarythmiques fleicainide, encainide et moricizine à des participants post-IM. La scopolamine, médication habituellement utilisée dans la prévention de la cinétose et des crampes intestinales, est un antagoniste des récepteurs muscariniques M1. Paradoxalement, l'administration de scopolamine à des participants post-IM a pour effet une augmentation de la VRC (Vybiral *et al.*, 1993) et une augmentation de l'activité parasympathique (De Ferrari *et al.*, 1993).

Certains changements spontanés peuvent aussi modifier les valeurs de VRC, comme la position du corps. Habituellement, les enregistrements de VRC sont effectués lorsque le participant est au repos, en position de supination. Lorsque le corps est en

position debout ou inclinée (head-up tilt), l'influence du sous-système sympathique est accentuée. En effet, alors que le ratio BF/HF est aux alentours de 1.00 lorsque le participant est au repos, il se situe à environ 3.00 lorsque le participant est en position inclinée à 90 degrés (Montano *et al.*, 1994); des changements similaires ont été observés sur la balance sympathovagale lors d'une inclinaison de 70 degrés (Sharma *et al.*, 2009). La respiration a aussi une influence sur la VRC. En effet, les HF sont plus élevées lors d'une respiration contrôlée que lors d'une respiration spontanée (Malliani *et al.*, 1991). La VRC est aussi influencée par un stress psychologique ou émotionnel (Seong *et al.*, 2004); le ratio BF/HF a alors tendance à augmenter, ce qui est signe d'une afférence sympathique accrue (Hjortskov *et al.*, 2004). Les variables de VRC retournent toutefois rapidement à leurs valeurs normales après de telles modifications (TFESC, 1996).

Chez une population saine, plusieurs facteurs plus stables causent aussi des variations dans les valeurs de VRC. C'est le cas de l'âge, le facteur de cette catégorie ayant la plus grande influence sur la VRC (Antelmi *et al.*, 2004). En effet, les valeurs de BF et HF ont tendance à augmenter avec l'âge, ce qui tend à démontrer une diminution de l'efficacité du SNA au niveau cardiaque, tout en maintenant une balance sympathovagale intacte (Zhang, 2007). Les effets de l'âge peuvent toutefois être ralentis par de l'exercice physique. En effet, des participants âgés s'étant entraînés pendant 40 ans ou plus montrent des valeurs de VRC temporelles et spectrales significativement plus élevées que des participants sédentaires (Galetta *et al.*, 2005). De plus, un programme d'entraînement d'environ 12 semaines donne des résultats significatifs chez une population jeune et d'âge moyen, soit une augmentation de la puissance totale et des HF. Les effets du sexe ont aussi été étudiés, mais sont moins documentés. Des différences au niveau de la distribution des fréquences sont toutefois notables (Sinnreich *et al.*, 1998); il est possible d'observer un plus grand pourcentage de HF chez les femmes, alors que les hommes présentent des BF et un ratio BF/HF plus élevé.



### 3.2.3 Usages cliniques de la VRC

Cliniquement, la VRC est utilisée majoritairement dans deux cas distincts. Le plus important est l'évaluation des risques suivant un infarctus du myocarde. Il a été démontré que la VRC est une variable prédictive, indépendante d'autres facteurs de risque, de mortalité et de complications dues à l'arythmie suivant un IM (Odemuyiwa *et al.*, 1991). La précision du pronostic est accentuée lorsque la VRC est combinée à une autre variable tels le rythme cardiaque ou la fraction d'éjection ventriculaire gauche (Camm et Fei, 1995). Des mesures de courte durée peuvent être prises dans les heures suivant l'IM (Fei et Malik, 1995), mais sont habituellement prises sur 24 heures, ou plus, environ une semaine après l'IM; les résultats montrent un SDNN significativement réduit chez les patients les plus atteints (Malik et Camm, 1990). De plus, la VRC est prédictive de mortalité jusqu'à un an après l'IM (Bigger *et al.*, 1993) puisqu'elle prend environ de 6 à 12 mois pour retourner près des valeurs pré-IM (Bigger *et al.*, 1988).

L'analyse de la VRC, de longue ou courte durée, est aussi utile pour détecter une neuropathie diabétique (Bellavere *et al.*, 1992), type de neuropathie autonome; cette dernière se caractérise par une dégénérescence des petites fibres nerveuses des sous-systèmes sympathiques et parasympathiques (Bannister, 1988). Lors d'analyses temporelles sur 24 heures, un nombre plus faible de NN50 corrélait avec un stade plus avancé de la neuropathie (Ewing *et al.*, 1991). Lors de l'analyse spectrale, on observe une diminution significative de la puissance totale ainsi que de toutes les fréquences, mais une balance sympathovagale, illustrée par le ratio BF/HF, intact. Les BF, qui augmentent habituellement en position debout, n'augmentent pas, ou peu, chez les participants souffrant de neuropathie diabétique (Pagani *et al.*, 1988).

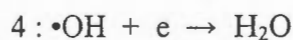
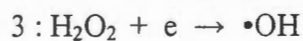
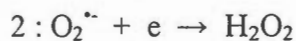
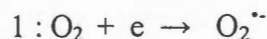
### 3.3 Dérivés réactifs de l'oxygène

La formation des dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) est une étape normale et essentielle du métabolisme aérobie (Castro et Freeman, 2001). Les DRO jouent un

rôle important dans les processus d'apoptose, de transmission cellulaire et d'assistance au système immunitaire dans la destruction d'agents pathogènes. Cependant, ils peuvent aussi endommager certaines cellules et leur rôle a été démontré dans plusieurs pathologies, tels les maladies cardiovasculaires et le cancer. L'homéostasie du système oxydatif est maintenue par plusieurs réactions d'oxydoréduction dans lesquelles il y a transfert d'électron entre deux espèces chimiques : l'oxydant est réduit en gagnant un électron et le réducteur est oxydé en perdant ce même électron. Lorsque l'homéostasie du système oxydatif est brisée et que les DRO ne sont pas réduits efficacement, il y a apparition de stress oxydatif (Seifried *et al.*, 2007). Seront abordés plus en détail dans cette sous-section : la formation des DRO et des dérivés réactifs de l'azote (DRA), les conséquences du stress oxydatif, le système de défense des antioxydants et le rôle du stress oxydatif dans diverses pathologies.

### 3.3.1 Genèse des DRO

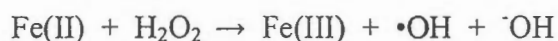
Chez l'humain, plus de 95% de l'oxygène ( $O_2$ ) consommé par le corps est métabolisé en eau par la cellule sans qu'il n'y ait formation de dérivés toxiques. Environ de 1 à 3% de l'oxygène est converti en DRO (Sohal et Weindruch, 1996) par une réduction univalente en quatre étapes :



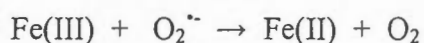
Bien que le produit final soit aussi de l'eau, trois DRO hautement toxiques sont formés lors de cette réaction: le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et les deux radicaux libres superoxyde ( $O_2^{\cdot -}$ ) et radical hydroxyle ( $\cdot OH$ ). Formés dans la mitochondrie, les DRO ne quittent habituellement pas leur lieu de formation, ils peuvent toutefois

migrer, dans certains cas pathophysiologiques, lors de l'éclatement respiratoire. Les DRO sont aussi produits par l'activité de certaines voies métaboliques et de réactions :

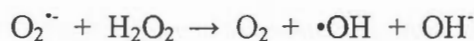
1. Réaction de Fenton : Cette réaction implique un catalyseur (fer) et du  $H_2O_2$ , qui est divisé en ion d'hydroxyde et en  $\bullet OH$  (Stohs et Bagchi, 1995).



2. Réaction de Haber-Weiss: Cette réaction est une réduction d'un électron du peroxyde d'hydrogène par le superoxyde en deux étapes (Liochev et Fridovich, 2002). La première étape implique un catalyseur (fer) :



La deuxième étape est la réaction de Fenton, ce qui donne comme réaction nette :



3. Xanthine oxydase : Cette enzyme catalyse l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine et peut catalyser l'oxydation de la xanthine en acide urique, créant ainsi du  $O_2^{\bullet -}$  (Harrison, 2002).
4. NADPH oxydase : Cette enzyme utilise les électrons du NADPH (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate) pour catalyser la réduction de l'oxygène en  $O_2^{\bullet -}$  (Bylund *et al.*, 2010).
5. Myéloperoxydase : Cette enzyme produit de l'acide hypochloreux à partir du  $H_2O_2$  et d'un anion chlorure ( $Cl^-$ ) durant l'éclatement respiratoire des neutrophiles. De plus, elle oxyde la tyrosine en radical tyrosyle par le  $H_2O_2$ . L'acide hypochloreux et le radical tyrosyle sont cytotoxiques et utilisés par les neutrophiles pour tuer les bactéries (Heinecke *et al.*, 1993).
6. Cytochrome P450 : Ces enzymes peuvent créer du superoxyde par une réaction complexe utilisant l'enzyme cytochrome P450 réductase (CPR). La

protonation du peroxy cytochrome P450 peut aussi produire du peroxyde d'hydrogène (Davydov, 2001).

### 3.3.2 Effets des DRO

La présence des DRO est essentielle dans l'organisme, puisqu'ils contribuent, entre autres, à la respiration mitochondriale, aux mécanismes de production de la prostaglandine et au système immunitaire (Webster et Nunn, 1988). En trop grand nombre, ces dérivés peuvent toutefois causer des dommages importants dans l'organisme. L'oxydation de l'ADN est la modification la plus néfaste causée par les DRO, puisque l'ADN est synthétisé par copie; sa modification peut donc entraîner des mutations et des instabilités génétiques. Fréquente chez l'humain, l'oxydation de l'ADN est un facteur important dans la formation des cancers, du diabète et du vieillissement (Rodrigo, 2009). Le DRO le plus important dans la modification de l'ADN est le radical hydroxyle ( $\bullet\text{OH}$ ), puisqu'il réagit avec toutes les composantes de la molécule d'ADN et endommage les bases de la purine et de la pyrimidine, en plus de s'attaquer au désoxyribose (Dizdaroğlu *et al.*, 2002).

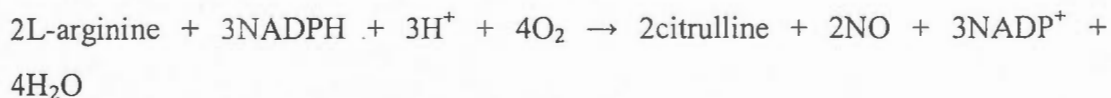
Les acides gras polyinsaturés, étant très sensibles à l'oxydation, sont fréquemment dégradés par les DRO (Esterbauer, Schaur et Zollner, 1991). La peroxydation des lipides se fait en trois étapes. La première étape, l'initiation, implique principalement un radical hydroxyle ( $\bullet\text{OH}$ ) ou un radical hydroperoxyde ( $\text{HO}_2$ ) se combinant à un atome d'hydrogène de l'acide gras pour former de l'eau et un radical lipidique; viennent ensuite les phases de propagation et de terminaison (Kohen et Nyska, 2002). Les radicaux peroxydes, formés lors de cette réaction en trois étapes, forment à leur tour une série de produits secondaires, principalement des aldéhydes, dont le malondialdéhyde ( $\text{CH}_2(\text{CHO})_2$ ) (Marnett, 1999). Étant le principal biomarqueur de la peroxydation des lipides et du stress oxydatif, le malondialdéhyde (MDA) cause aussi des dommages importants au fonctionnement des cellules; sa longévité et sa réactivité élevée lui permettent de fonctionner à l'intérieur et à l'extérieur des cellules et

d'interagir notamment avec certains acides nucléiques et protéines (Del Rio, Stewart et Pellegrini, 2005). En interagissant avec les bases des acides nucléiques, le MDA forme le M<sub>1</sub>G, une substance mutagène (VanderVeen *et al.*, 2003). Le MDA peut aussi causer la réticulation inter-brin de l'ADN, ce qui endommage ce dernier (Niedernhofer *et al.*, 2003). De plus, le MDA contribue au durcissement des tissus cardiovasculaires par son interaction avec le collagène (Slatter, Bolton et Bailey, 2000). L'action mutagène du malondialdéhyde est reflétée par sa présence accrue dans divers cas de cancers : des taux significativement plus élevés de malondialdéhyde ont été décelés chez des participants atteints du cancer du poumon (Gonenc *et al.*, 2001), du cancer du sein (Akbulut *et al.*, 2003), du cancer du cerveau (Manju, Kalaivani Sailaja et Nalini, 2002), du cancer de l'intestin (Bakan *et al.*, 2002) et de leucémie lymphoïde chronique (Bakan *et al.*, 2003). De plus, des taux élevés de MDA ont été observés lors de plusieurs pathologies tels la prééclampsie (Yoneyama *et al.*, 2002), le diabète de type 2 (Dierckx *et al.*, 2003), l'insuffisance cardiaque (Polidori *et al.*, 2002), l'athérosclérose (Tamer *et al.*, 2002) et les maladies neurodégénératives comme l'Alzheimer (Delibas, Ozcankaya et Altuntas, 2002). En outre, la peroxydation des lipides affecte aussi les lipoprotéines de haute densité (HDL) et de basse densité (LDL); l'oxydation de ces dernières est un processus important de la formation de l'athérosclérose (Spiteller, 2003).

### **3.4 Dérivés réactifs de l'azote**

Tout comme les DRO, les dérivés réactifs de l'azote (DRA) peuvent causer de nombreux dommages à l'organisme (Patel *et al.*, 1999). Étant responsable de la formation des DRA, l'oxyde nitrique occupe aussi un rôle important dans plusieurs mécanismes et processus importants (Bredt, 1999). La formation du NO est catalysée par l'enzyme oxyde nitrique synthétase (NOS), qui se retrouve sous trois formes majeures : neuronale (nNOS ou NOS1), inductible (iNOS ou NOS2) et endothéliale (eNOS ou NOS3). nNOS produit du NO dans les systèmes nerveux central et périphérique, iNOS participe au système immunitaire alors que eNOS génère du NO

dans les artères et participe aux fonctions vasculaires telles la vasodilatation (Stuehr, 1999). L-arginine, un des acides aminés les plus répandus, est oxydé en citrulline et en NO par une réaction complexe catalysée par les enzymes NOS et impliquant plusieurs cofacteurs : NADPH, O<sub>2</sub>, FMN (flavine mononucléotide), FAD (flavine adénine dinucléotide), BH<sub>4</sub> (tétrahydrobioptérine) et un hème (Chen et Popel, 2007):

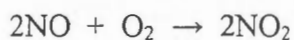


Cependant, le NOS, particulièrement le eNOS, peut ne pas réagir avec L-arginine (phénomène appelé « uncoupling »); s'en suit, par diverses réactions, la production de DRO, principalement de superoxyde, et non de NO (Gielis *et al.*, 2010).

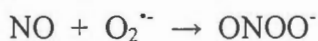
Une fois synthétisé, l'oxyde nitrique remplit plusieurs rôles dans l'organisme. Lorsque synthétisée dans les artères par le eNOS, il active la guanylate cyclase qui catalyse la conversion de la guanosine triphosphate en deuxième messenger guanosine monophosphate cyclique (cGMP). À son tour, la cGMP active différentes kinases cGMP-dépendantes qui diminuent les concentrations intracellulaires de Ca<sup>+2</sup>, ce qui cause une vasodilatation des tissus (Ignarro *et al.*, 1986). Le NO a aussi une influence sur les fonctions cardiaques, puisqu'il contribue aux mécanismes de régulation sympathique et parasympathique du SNA (Schultz, 2009). Au niveau du système immunitaire, certains phagocytes, comme les macrophages et les neutrophiles, peuvent créer du NO à partir du iNOS dans le but d'éliminer certaines bactéries (Holan *et al.*, 2002). Le NO agit aussi à titre de neurotransmetteur non cholinergique et non adrénérgique dans le système nerveux. Sa structure et sa haute réactivité lui permettent de diffuser rapidement à travers les cellules sans la nécessité de dégradation enzymatique ou de recapture du neurotransmetteur (Knott et Bossy-Wetzel, 2009).

Le NO est une petite molécule hydrophobe pouvant traverser les membranes cellulaires sans l'aide de canaux ou de récepteurs. De par la perméabilité des

membranes à son endroit, une molécule de NO peut diffuser facilement entre plusieurs cellules durant sa demi-vie d'environ une seconde (Pacher, Beckman et Liaudet, 2007). En réagissant avec l'oxygène, le NO forme du dioxyde d'azote (NO<sub>2</sub>) :



Cette réaction formant un composé chimique potentiellement toxique est minime dans l'organisme, puisque le NO diffuse rapidement des tissus vers les globules rouges, réagissant avec l'oxyhémoglobine pour former du nitrate, ce qui prévient une formation importante de dioxyde d'azote (Butler, Megson et Wright, 1998). Cependant, lorsqu'il y a production de superoxyde (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) et de NO dans des cellules adjacentes, la production de peroxynitrite (ONOO<sup>-</sup>) est spontanée (Huie et Padmaja, 1993) :



Aucune molécule ne réagit plus rapidement avec le O<sub>2</sub><sup>•-</sup> que le NO, ce qui rend la formation de ONOO<sup>-</sup> inévitable, même en présence de superoxyde dismutase (Pacher, Beckman et Liaudet, 2007). De plus, une formation de superoxyde et d'oxyde nitrique 10 fois plus importante résultera en une formation de peroxynitrite 100 fois plus importante (Liu *et al.*, 1998).

Le peroxynitrite est beaucoup plus réactif que le NO et le O<sub>2</sub><sup>•-</sup> et réagit facilement avec les protéines, les lipides et l'acide nucléique (Beckman et Koppenol, 1996). En réagissant avec le centre (métaux de transition) des protéines, le ONOO<sup>-</sup> peut inactiver certaines enzymes (Castro, Rodriguez et Radi, 1994), ainsi que iNOS (Huhmer *et al.*, 1997) et eNOS (Zou, Cohen et Ullrich, 2004). Le ONOO<sup>-</sup> réagit aussi avec les acides aminés de la protéine, oxydant la cystéine, le tryptophane, la méthionine et l'histidine (Pacher, Beckman et Liaudet, 2007). Il peut aussi faire la nitration de la tyrosine (Alvarez et Radi, 2003), une réaction importante identifiée dans plus de 50 maladies (Greenacre et Ischiropoulos, 2001). Ses actions sur les

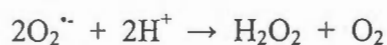
lipides incluent la peroxydation dans les membranes cellulaires (Radi *et al.*, 1991), la peroxydation des lipides de la myéline, ce qui mène à la démyélinisation (Smith, Kapoor et Felts, 1999) ainsi que l'oxydation des LDL (Leeuwenburgh *et al.*, 1997). En réagissant avec les bases azotées et les colonnes sucre-phosphate, le  $\text{ONOO}^-$  peut endommager l'ADN (Burney *et al.*, 1999). De plus, le peroxyde d'azote peut induire la mort cellulaire par l'apoptose et la nécrose (Virag *et al.*, 2003).

### 3.5 Antioxydants

Bien que les DRO et les DRA soient essentiels à plusieurs mécanismes biologiques, ils deviennent dangereux lorsqu'en trop grande concentration; il y a alors stress oxydatif. L'homéostasie cellulaire, essentielle au bon fonctionnement du corps humain, est maintenue en partie par le système de défense antioxydant (Rodrigo, 2009). Les antioxydants sont généralement de petites molécules pouvant récupérer les radicaux libres en recevant ou, plus souvent, en donnant un électron; ils sont pour la plupart des réducteurs (Sies, 1997). Ils peuvent être produits de façon endogène ou provenir de sources exogènes, comme l'alimentation ou les suppléments antioxydants. (Vertuani, Angusti et Manfredini, 2004). Les antioxydants exogènes, comme l'acide ascorbique (vitamine C), se retrouvent à l'intérieur comme à l'extérieur de la cellule ainsi que sur la membrane cellulaire. Certaines substances hydrophobes, la plus importante étant la vitamine E, ont comme rôle de protéger l'intérieur de la membrane cellulaire, riche en acides gras polyinsaturés, de la peroxydation lipidique (Spiteller, 2003). Certains antioxydants endogènes, comme l'acide urique, sont présents dans le plasma sanguin; les plus importants antioxydants endogènes sont toutefois les enzymes superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT) et glutathion peroxydase (GPx) (Rodrigo, 2009) qui seront décrites plus en détail dans les sections qui suivent.

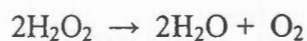


Il existe trois types de superoxyde dismutase : le CuZn-SOD (SOD1) est un dimère contenant du cuivre et du zinc en son centre et se trouvant principalement dans le cytoplasme, le Mn-SOD (SOD2) est un tétramère contenant du manganèse en son centre et se situant dans la mitochondrie alors que le EC-SOD (SOD3) est extracellulaire, il est lui aussi un tétramère, contenant par contre du cuivre et du zinc en son centre (Vives-Bauza, Starkov et Garcia-Arumi, 2007). Les SOD catalysent la dismutation du superoxyde en oxygène et en peroxyde d'hydrogène (McCord et Fridovich, 1969):

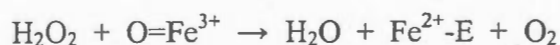
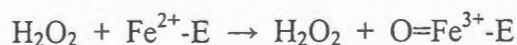


Cette réaction implique une première demi-réaction oxydative dans laquelle le superoxyde est oxydé en dioxygène, suivie d'une deuxième demi-réaction réductrice où le superoxyde est converti en  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Les SOD, principalement le SOD3, sont régulateurs de la biodisponibilité et de la bioactivité du NO en modulant la formation du peroxyde d'azote (Gongora *et al.*, 2006). Le SOD2 joue aussi un rôle important dans le mécanisme de défense lors de l'apparition de cancers puisqu'il a un effet suppresseur au niveau des tumeurs (Kinnula et Crapo, 2004).

L'enzyme catalase, un tétramère composé de quatre chaînes de polypeptides, se retrouve dans la presque totalité des organismes aérobies (Chelikani, Fita et Loewen, 2004). Son rôle principal est de catalyser la dégradation du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène (Luck, 1954) :

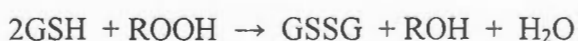


Le mécanisme précis de cette réaction est, à ce jour, imprécis (Vives-Bauza, Starkov et Garcia-Arumi, 2007). Cependant, le mécanisme de la réaction généralement accepté est celui proposé par Deisseroth et Dounce (Deisseroth et Dounce, 1970) :

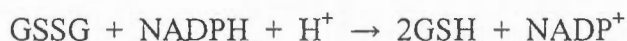


Lors de la première étape de la réaction, une première molécule de  $H_2O_2$  pénètre dans l'hème de l'enzyme ( $Fe^{2+}$ ); ce dernier réduit le peroxyde d'hydrogène en eau et  $O=Fe^{3+}$  (appelé ici Compound I), plus un radical hème, qui est dégradé par une autre réaction, laissant l'hème intact (Ivancich *et al.*, 1997). Lors de la deuxième étape, Compound I oxyde une deuxième molécule de  $H_2O_2$ , ce qui donne comme résultat final l'enzyme originale ( $Fe^{2+}$ -E), une molécule d'eau et une molécule d'oxygène. Bien qu'une carence en catalase a été associée au diabète de type 2 (Goth, 2008), les gens souffrant d'acatalasie, une absence importante, parfois totale, de catalase, montrent très peu de symptômes, ce qui tend à confirmer l'hypothèse que les peroxyredoxines, principalement le glutathion peroxydase, sont les enzymes principales dans la dégradation du peroxyde d'hydrogène (McCord, 2000).

L'enzyme glutathion peroxydase (GPx) est l'antioxydant endogène principal du corps humain; son rôle est de catalyser la réduction du  $H_2O_2$  en eau et la réduction des hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcools (Rodrigo, 2009). Il existe au moins 8 types de GPx, les plus étudiés étant GPx1, GPx2 (gastro-intestinal), GPx3 (plasma) et GPx4 (phospholipide hydroperoxydase). Contenant tous les quatre du sélénium, GPx 4 se distingue par sa structure monomérique, alors que GPx1, GPx2 et GPx3 sont des protéines homotétramériques (Muller *et al.*, 2007). L'enzyme la plus courante dans l'organisme est GPx1, qui se trouve en effet dans le cytoplasme de la plupart des cellules. Alors que GPx1 réduit principalement le peroxyde d'hydrogène, GPx4 réagit surtout avec les hydroperoxydes lipidiques, ce qui lui confère un rôle important de protection des membranes lipidiques contre la peroxydation des lipides (Brigelius-Flohe *et al.*, 1994). La réaction entre le GPx et le  $H_2O_2$  ou le ROOH se fait comme suit (Deneke et Fanburg, 1989):



Par l'oxydation du glutathion (GSH), il y a formation de glutathion disulfide (GSSG); ce dernier retrouvera sa forme de glutathion, par réduction, à l'aide du glutathion reductase, qui utilise un électron du NADPH (Meister et Anderson, 1983):



L'importance du GPx a été démontrée, non seulement dans la prévention de pathologies comme le cancer ou les maladies cardiovasculaires, mais aussi comme potentiel traitement (Lubos, Loscalzo et Handy, 2010).

### 3.6 Stress oxydatif et pathologies

Le stress oxydatif, causé par une trop grande production de DRO et de DRA ou une capacité insuffisante du système antioxydant à réduire ces dérivés, contribue à la pathogenèse de nombreuses maladies non reliées. En endommageant directement les cellules ou en agissant comme intermédiaire d'autres mécanismes pathophysiologiques, le stress oxydatif a une grande responsabilité dans la genèse de maladies cardiovasculaires, neurodégénératives et métaboliques ainsi que dans le vieillissement et la formation de cancers (Rodrigo, 2009).

L'hypertension, une des maladies chroniques les plus répandues mondialement, est causée, en partie, par le stress oxydatif, grand responsable de la dysfonction endothéliale (Lassegue et Griendling, 2004). Cette dysfonction se caractérise par un détachement des cellules endothéliales de la membrane cellulaire endothéliale, d'une capacité réduite des cellules endothéliales environnantes à réparer les dommages et d'une synthèse de NO diminuée (Deanfield, Halcox et Rabelink, 2007). Le diméthylarginine asymétrique (ADMA) interfère dans la production de NO, puisqu'il compétitionne avec L-arginine et réagit avec eNOS, causant un « uncoupling » de ce dernier. Cette réaction amène le eNOS à produire du superoxyde au lieu de l'oxyde nitrique (Gielis *et al.*, 2010). Le superoxyde réagit ensuite avec du NO, créant du peroxynitrite qui produit, à son tour, du •OH. Le radical hydroxyl endommage l'endothélium, alors que la réduction du NO inhibe l'effet vasodilatateur habituel de

ce dernier, causant une hausse de la pression artérielle (Mollnau *et al.*, 2005). De plus, le peroxy-nitrite oxyde le LDL, qui devient ensuite oxLDL et entre en contact avec la paroi vasculaire et l'endommagement, ce qui mène à une inflammation, un durcissement de la paroi et un rétrécissement de l'artère. Ce phénomène, l'athérosclérose, cause une diminution de la circulation sanguine et une hausse de la pression artérielle (Bonomini *et al.*, 2008). Le NO, de concert avec la prostacycline, empêche l'accumulation de plaquettes sur la paroi endothéliale (Galle et Wanner, 1997). Il inhibe aussi l'adhésion des neutrophiles aux cellules endothéliales et empêche la multiplication de cellules de muscle lisse qui peuvent former une capsule fibreuse sur la paroi endothéliale (Radomski, Palmer et Moncada, 1987). Lorsqu'il y a un déficit de NO, par les mécanismes vus précédemment, le ralentissement de ces trois fonctions inhibitrices accélère les mécanismes de l'athérosclérose.

Le rôle du stress oxydatif dans la genèse des maladies neurogénétiques est moins connu, mais d'importantes études tendent à démontrer son importance. (Coyle et Puttfarcken, 1993). In vitro, les radicaux libres peuvent induire la dégénérescence et la mort du neurone. Une oxydation accrue de l'ADN et des protéines ainsi que des taux élevés de malondialdéhyde et de peroxy-nitrite ont été mesurés dans les cerveaux de patients atteints de la maladie d'Alzheimer (Markesbery, 1997). Dans les cas de Parkinson, une dysfonction mitochondriale associée au stress oxydatif semble être un facteur menant au mal fonctionnement des neurones dopaminergiques (Henchcliffe et Beal, 2008).

Le stress oxydatif, influencé par le contrôle glycométabolique dans les cas de diabète (type 1 et type 2), joue un rôle dans la résistance à l'insuline (Paolisso et Giugliano, 1996). Les taux de malondialdéhyde sont significativement plus élevés après un repas chez les patients atteints de diabète de type 2 (Ceriello *et al.*, 1998). De plus, le stress oxydatif causé par le diabète augmente le risque de complications telles les neuropathies, les maladies cardiovasculaires et les rétinopathies (Wei *et al.*, 2009). Des taux élevés élevés de DRO et de DRA ont aussi été mesurés dans les cas de

prééclampsie, maladie caractérisée par une augmentation de la pression artérielle et une protéinurie durant la deuxième moitié de la grossesse (Roberts *et al.*, 1990). La dysfonction endothéliale observée lors de cette maladie est due à une placentation déficiente; des taux élevés de peroxynitrite ont été observés dans le placenta des femmes souffrant de cette pathologie (Hubel, 1999). Le stress oxydatif est aussi associé à la pathogenèse du glaucome, une maladie oculaire, de par les dommages qu'il cause au trabéculum, la partie de l'œil dont la fonction est le drainage de l'humeur aqueuse. En effet, le  $H_2O_2$  contribue à la dégénérescence du trabéculum; ce dernier génère habituellement une forte quantité d'enzymes antioxydants SOD, CAT et GSH, processus ralenti chez des patients atteints de glaucome (Izzotti, Bagnis et Sacca, 2006). La grande quantité d'acides gras polyinsaturés se trouvant dans le rein rend ce dernier sujet aux influences néfastes des DRO (Kubo *et al.*, 1997). En effet, le stress oxydatif est associé à plusieurs maladies rénales, comme l'insuffisance rénale chronique et les pierres aux reins (Rodrigo et Rivera, 2002). Les dommages causés à l'ADN par le  $\bullet OH$ , le  $ONOO^-$  et le MDA mettent en cause le stress oxydatif dans la formation de plusieurs cancers. Parmi les nombreuses théories du vieillissement, celle mettant en cause le stress oxydatif apparaît comme une des plus plausibles et étudiées. La production de DRO et de DRA endommageant les lipides, protéines et l'ADN serait dépendante du métabolisme de base et contribuerait grandement au processus de vieillissement (Frisard et Ravussin, 2006).

### 3.7 Liens inter-variables

Les recherches étudiant les effets du stress oxydatif sur le système nerveux autonome, dont l'activité est mesurée par la variabilité du rythme cardiaque, sont, à ce jour, peu nombreuses. Une récente publication a toutefois démontré une corrélation entre le malondialdéhyde et plusieurs variables de la VRC (Pavithran *et al.*, 2008). Chez des participants souffrant d'hypertension, on peut en effet observer une corrélation inverse significative entre le MDA et le SDNN ( $r = -0,458$   $p = 0,006$ ), le rMSSD ( $r = -0,350$   $p = 0,042$ ), et les HF en unités absolues ( $r = -0,342$   $p = 0,048$ ) et normalisées

( $r = -0,368$   $p = 0,032$ ); le MDA corrèle aussi avec les BF en unités normalisées ( $r = 0,365$   $p = 0,034$ ). Ces résultats démontrent l'implication du stress oxydatif, exprimé à l'aide du marqueur MDA, dans la modulation du SNA chez les hypertendus. De plus, une autre étude a démontré le rôle des DRO dans l'activation du système nerveux sympathique (Campese *et al.*, 2004), mécanisme principalement relié à l'action inhibée du NO. Les fonctions autonomes du cœur sont principalement modulées par le noyau du faisceau solitaire, qui reçoit les afférences des barorécepteurs et les efférences du cervelet. Une micro-injection de NO ou de L-arginine au niveau du noyau du faisceau solitaire des rats cause une bradycardie et une baisse de pression artérielle (Lin *et al.*, 1999). Chez les humains, une injection de NO augmente la composante spectrale des HF de la VRC, un indicateur de l'activité parasympathique (Chowdhary et Townend, 1999). De plus, le NO influe positivement sur le baro-réflexe (Danson et Paterson, 2006) et module, au niveau présynaptique, la neurotransmission parasympathique (Sears, Choate et Paterson, 1999) en plus d'inhiber la neurotransmission sympathique bêta adrénergique (Danson, Choate et Paterson, 2005), ce qui cause une bradycardie. Par ailleurs, plusieurs phénomènes peuvent causer le « uncoupling » du NOS, comme la présence accrue de l'antagoniste de L-arginine, l'ADMA, ou l'absence de cofacteurs essentiels à la formation de NO, comme le BH<sub>4</sub> (Schmidt *et al.*, 1996). Il a été démontré qu'une inhibition du nNOS cause une réduction de la bradycardie d'origine parasympathique (Conlon et Kidd, 1999). Lors d'une production trop élevée de superoxyde dans les cellules adjacentes à celles produisant du NO, il y a formation de peroxy-nitrite. En plus des dommages causés par ce dernier, cette réaction cause une réduction de la biodisponibilité du NO (Pacher, Beckman et Liaudet, 2007). Il a été démontré qu'un stress oxydatif accru contribue à une dysfonction autonome lors de maladies cardiaques et que la production de superoxyde augmente l'activité du système sympathique, effet pouvant être réduit par une surexpression de SOD (Lindley *et al.*, 2004). Le NO est donc essentiel à la balance sympathovagale et le stress oxydatif peut influencer sur celle-ci par une inhibition du parasympathique.

## IV. MÉTHODOLOGIE

### 4.1 Participants

Cette étude relevait entièrement de données recueillies lors d'une large étude descriptive menée conjointement par l'Université du Québec à Montréal et la *Federal University of Rio de Janeiro*. Les données recueillies l'ont été selon la méthodologie élaborée par les responsables de l'étude. La mise en place des objectifs et l'analyse des données ont été faites après le fait (ex post facto) et la base de données est utilisée avec la permission des responsables de l'étude; cette dernière demeure l'entière propriété des coordonnateurs du projet. La sélection de participants a été faite comme décrite dans l'article de Fillion (Fillion, 2006). Les participants provenaient de six communautés (Sao Luiz de Tapajos, Nova Canaa, Santo Antonio, Mussum, Vista Alegre et Açaituba) vivant le long de la rivière Tapajos, un affluent important de l'Amazonie. Le recrutement de participant a été fait par porte-à-porte et durant certaines rencontres de village, durant lesquelles le projet a été expliqué et les habitants ont été invités à participer sur une base volontaire. L'échantillonnage aléatoire pur n'étant pas possible, la méthode d'échantillonnage accidentel a été utilisée ; l'âge et le sexe des participants ont été comparés à ceux de la population qui avaient été recueillis lors du sondage porte-à-porte. Le nombre de participants nécessaire pour cette étude a été préalablement établi par les responsables de cette dernière. L'étude principale comptait au départ 450 participants et des valeurs de VRC ont été recueillies sur 270 d'entre eux; seuls ces derniers ont été utilisés pour la présente étude. Les quatre valeurs représentant le stress oxydatif (MDA, NO, CAT, GPx) ont pu être obtenues chez 95 des 270 participants (Tableau 4,1). L'étude a été approuvée par la *Federal University of Rio de Janeiro* qui a un mandat de l'*Ethics Review Board of the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico of Tecnológico* (CNPq) du Brésil, ainsi que par l'Université du Québec à Montréal. Tous les participants ont signé un formulaire de consentement qui leur a été

préalablement lu. Exclus de l'étude étaient les habitants ayant moins de 16 ans et souffrant de diabète. Les mesures ont été prises sur les femmes enceintes et allaitant, ainsi que sur les participants ayant subi un accident vasculaire cérébral, mais leurs données n'ont pas été analysées.

**Tableau 4.1 Représentation des variables (N)**

<b>Variabes</b>	<b>Valides</b>	<b>Manquantes</b>
VRC * NO	155	115
VRC * MDA	235	35
VRC * CAT	140	130
VRC * GPx	140	130
VRC * NO * MDA * CAT * GPx	95	175

#### **4.2 Mesures**

L'étude relevant du domaine épidémiologique, un seul groupe de participant a été utilisé dans le but d'observer les corrélations entre les différentes variables dépendantes et indépendantes, ces dernières étant les mesures de stress oxydatif.

Pour la mesure du malondialdéhyde, du méthanol et de n-butanol de qualité HPLC ont été achetés à l'entreprise Tedia (Fairfield, États-Unis). L'acide thiobarbiturique et le malondialdéhyde bis (diméthylacétal) ont été achetés de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Tous les autres réactifs utilisés sont de qualité analytique. Les solutions aqueuses ont été préparées avec de l'eau déminéralisée par osmose inversée (Millipore, Bedford, MA, USA). Le sang a été recueilli par veni-puncture dans des tubes contenant une solution d'EDTA anticoagulante. Les échantillons de sang ont été maintenus à une température de 0 à 4 degrés Celsius jusqu'à la centrifugation, ils ont



ensuite été centrifugés à 1500 g durant 10 min dans un centrifuge réfrigéré (4 °C). Le plasma surnageant a été enlevé avec soin afin d'éviter la contamination avec des plaquettes. La mesure de malondialdéhyde a été faite selon la méthode Grotto (Grotto, 2007) Un volume de 75 µL de plasma a été hydrolysé par 25 µL de NaOH à 60 °C durant 30 min. L'étape de déprotéinisation a été réalisée avec 125 µL de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> de 6% et la dérivation avec 125 µL de t-butanol à 0,8%, à une température de 90 °C pendant 45 min. Avant l'injection dans le chromatographe, les échantillons ont été extraits avec 300 µL de n-butanol. Par la suite, 20 µL de la couche de n-butanol ont été injectés dans le HPLC. La séparation de la MDA-(t-butanol) 2 a été réalisée à l'aide d'un chromatographe doté d'un système de gradient Knauer, modèle WellChrom, équipé d'une pompe quaternaire, injection manuelle avec boucle de 20 µL et détecteur UV-VIS. La collecte de données et leur traitement ont été effectués en utilisant un logiciel spécialisé et dédié (EUROCHROM 2000 SOFTWARE ®, édition de base, 2.05 pour Windows). La colonne analytique en est une à phase inversée C18 à base de silice (Eurospher-100), avec des dimensions de 150 x 4 mm avec des particules de 5 microns, et une colonne de garde (Eurospher-100) faisant 5 x 4 mm avec des particules de 5 microns. La phase mobile est un mélange de 2,5 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pH 7,0 et de méthanol (50:50 v / v). L'échantillon a été analysé durant 8 minutes, avec un débit de 0,6 ml / min, maintenu tout au long de la chromatographie. La colonne a été maintenue à 40 °C dans un système de colonnes chromatographiques (Chromacon ®). L'absorbance de l'éluant est contrôlée à 532 nm.

Pour la mesure du NO, les aliquotes de plasma ont été analysés en double exemplaire, afin de déterminer leur contenu de nitrite, à l'aide de chimiluminescence à base d'ozone selon la méthode de Barbosa (Barbosa, 2006). Afin de mesurer les concentrations de nitrites dans le plasma, 100 µL d'échantillons de plasma ont été injectés dans une solution de triiodure acidifié, coupé à l'azote aligné avec un analyseur NO chimiluminescent à gaz. (Sievers modèle NO 280 Analyzer, Boulder, CO, USA). Environ 8 ml de solution de triiodure (2 g d'iodure de potassium et 1.3g

d'iode dissous dans 40ml d'eau 140ml avec d'acide acétique) ont été placés dans le cylindre de pression dans lequel les échantillons de plasma ont été injectés. La solution de triiodure réduit les nitrites en gaz NO, qui est détecté par l'analyseur de NO par l'intermédiaire du NO libéré du nitrite pour la détection par chimiluminescence. Cette méthodologie a des coefficients de variation intratest et intralaboratoire de moins de 2,5%

Les enzymes antioxydants catalase (CAT) ont été mesurés comme décrit précédemment par Aebi (Aebi, 1984) avec certaines adaptations. Ce test implique le changement d'absorbance à 240 nm à cause de la décomposition du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dépendant de la catalase. Un aliquote (20 µL) de sang a été mélangé avec un tampon phosphate de potassium 50 mM, pH 7,0, et 70 µL de 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a été ajoutée à chaque échantillon. Le changement d'absorbance à 240 nm a été mesuré pendant 1 minute et la pente de la courbe à la hauteur de la linéarité a été calculée. La constante de vitesse de réaction de premier ordre ( $\kappa$ ), liée à la teneur en hémoglobine ( $\kappa$  / g de Hb), a servi en tant que mesure de la spécificité de l'activité CAT érythrocyte.

L'activité de l'enzyme antioxydante glutathion peroxydase (GPx) a été déterminée au moyen du glutathion réductase et du NADPH. Cette méthode est basée sur l'oxydation du NADPH à 25 °C, ce qui est indiqué par la diminution de l'absorbance à 340 nm, selon Paglia et Valentine (Paglia, 1967). Les résultats sont exprimés en nmol NADPH/min/mL érythrocytes.

Le contrôle de la qualité pour les mesures de Hb est garanti par l'analyse des matériaux de référence standard de l'US National Institute of Standards and Technologies (NIST). En outre, divers matériaux de référence secondaire, soit fournis par l'État de New York, Département de la Santé (DOH NYS PT Program for Trace Elements in Whole Blood and Plasma) ou par l'Institut national de santé publique du Québec, Canada (INSP- external Quality Assessment Scheme (EQAS) pour les oligo-éléments dans le sang, le plasma et les cheveux) ont été analysés. Les échantillons de

référence ont été analysés avant et après dix échantillons standards. Tous les résultats étaient dans les valeurs normales attendues.

Les mesures de pression artérielle ont été prises comme décrit par Fillion (Fillion, 2006). Une seule infirmière a pris les mesures sur l'ensemble des participants tout au long de l'étude. Le participant devait rester assis, sans bouger, durant 5 minutes. Les mesures de pression ont été prises en position assise, avec le bras appuyé à la hauteur du cœur et sans qu'aucun vêtement nuise à la circulation. Les pressions systoliques et diastoliques ont été prises à l'aide d'un sphygmomanomètre (Mark of Fitness, model MF-20) placé sur l'artère brachiale. Les mesures de pression aux chevilles ont été prises dans la même position, avec le même appareil placé sur l'artère tibiale postérieure. Les mesures ont été faites à 3 reprises sur chaque bras et chaque cheville pour un total de 12 mesures.

La variabilité du rythme cardiaque se mesure habituellement avec un électrocardiogramme ou Holter portatif. Pour des raisons économiques et pratiques, la présente étude a utilisé un cardiofréquencemètre mesurant les intervalles RR des battements cardiaques et donnant des résultats similaires (Polar, modèle s810). L'infirmière récoltant les données a placé le cardiofréquencemètre, enduit de gel électroconducteur, sous le muscle pectoral du participant. Après un repos en position assise de 5 minutes, l'enregistrement a débuté, le participant gardant la même position pour une durée d'enregistrement d'environ 45 minutes parmi lesquelles les 20 minutes les plus stables ont été conservées (Vanderlei *et al.*, 2008). Les données ont été ensuite transférées sur ordinateur et traitées par le logiciel Polar Precision Performance pour la correction d'erreur. Les tachygrammes (intervalles R-R en fonction du temps) ont été exportées au logiciel Kubios HRV Analysis (Biosignal Analysis and Medical Imaging Group, University of Kuopio, Kuopio, Fi) afin d'en retirer les valeurs de RR moyen, SDNN, RMSSD, pNN50, puissance totale, BF, TBF, HF, et le ratio BF/HF en accord avec les standards de fréquence établis en 1996 (TFESC, 1996).

### 4.3 Protocole

La collecte de données a débuté par un questionnaire administré par deux sondeurs expérimentés et dure environ une heure. L'âge, le niveau d'éducation, l'emploi, l'historique de résidence, le tabagisme, les habitudes de consommation d'alcool et de poisson et l'historique médical étaient les variables prises en note. Les participants ont été pesés et mesurés après le questionnaire et l'IMC a été calculé (Fillion, 2006).

Étant donné la large étendue de cette recherche globale, pour laquelle on a recueilli plus de 950 variables pour 450 participants, la description des tests non utilisés pour cette étude ne sera pas incluse. Une prise de sang, pour laquelle on a recueilli une quantité de sang suffisante pour l'ensemble des tests de biomarqueurs de stress oxydatif, a été prise par la même infirmière au domicile du patient. L'échantillon sanguin a ensuite été réfrigéré et acheminé aux laboratoires effectuant les tests. Le test de pression artérielle a été effectué, sur rendez-vous, au domicile du patient et la même infirmière a administré le test aux 450 participants. Après un repos de 5 minutes en position assise, le sphygmomanomètre a été installé sur l'artère brachiale du participant, qui avait son bras appuyé à la hauteur du cœur. Trois mesures ont été prises sur chaque bras, puis 3 mesures sur chaque cheville au niveau de l'artère tibiale postérieure. Dans cette même position assise, la hauteur du cœur du participant, en centimètres, a été mesurée. Il y avait possibilité de faire un seul ou plusieurs tests sur le participant durant la même visite, étant donné la grande panoplie de tests à administrer. Pour ce qui est du test de variabilité du rythme cardiaque, il a été effectué dans les mêmes conditions; le participant demeurait au repos en position assise durant 5 minutes, puis on lui installait la montre Polar et le cardiofréquencemètre souple enduit de gel électroconducteur sous le muscle pectoral. L'enregistrement durait environ 45 minutes, au repos en position assise. Les tests ont été effectués en avant-midi ou en après-midi, heures auxquelles les variations circadiennes n'ont qu'une faible influence sur les variables de la VRC (Bilan *et al.*, 2005). Une fois le test terminé, l'appareillage a été retiré et les données ont été informatisées ultérieurement.

## V. STATISTIQUES

Le rapport du laboratoire contenant les résultats des tests de biomarqueurs de stress oxydatif a été acheminé aux chercheurs ; les résultats ont ensuite été retranscrits dans la base de données. Les données sociodémographiques et de pression artérielle ont été notées à la main, puis retranscrites dans la base de données informatisée. Les données de variabilité du rythme cardiaque ont d'abord été traitées sur le logiciel Polar Precision Performance pour la correction d'erreur (artéfacts). Les valeurs moyennes, soit celles de RR moyen, SDNN, RMSSD, pNN50, puissance totale, BF, TBF, HF, et le ratio BF/HF, pour le test de 20 minutes, ont ensuite été transférées dans la base de données.

Le logiciel utilisé pour l'analyse de données était SPSS, version 16.0. Les statistiques descriptives ont été utilisées pour faire ressortir les tendances générales de l'échantillon. Des tests de corrélation (Pearson 2 à 2) ont été utilisés pour déterminer le taux de relation entre les variables. Les valeurs pouvant influencer les variables dépendantes, soit l'âge, le sexe, l'IMC, la tension artérielle et le rythme cardiaque de repos ont été identifiés comme variables confondantes. De plus, une analyse en composantes principales a été effectuée dans le but de réduire les variables en un nombre plus limité de facteurs.

## VI. RÉSULTATS

Le **tableau 5.1** présente les valeurs des variables confondantes des sujets selon leur sexe. Les deux groupes avaient des valeurs similaires d'âge, d'IMC et de pression artérielle moyenne. Cependant, on observe des différences significatives pour le rythme cardiaque de repos ( $p = 0,032$ ). De plus, on observe chez les hommes une pression artérielle systolique significativement plus élevée ( $p = 0,000$ ), mais une pression artérielle diastolique plus basse ( $p = 0,000$ ).

**Tableau 5.1 Variables confondantes selon le sexe**

Variables	Hommes n = 146	Femmes n = 124
Âge	41,6 ± 15,6	38,6 ± 14,3
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	24,3 ± 2,9	25,03 ± 4,5
PA Systolique (mmHg)*	121,9 ± 16,4	113,3 ± 19,0
PA Diastolique (mmHg)**	68,6 ± 11,7	71,6 ± 10,9
PA Moyenne (mmHg)	86,4 ± 12,2	85,5 ± 13,1
RC Repos*	69,3 ± 10,1	77,8 ± 10,3

\*  $p = 0,000$     \*\*  $p = 0,032$

Le **tableau 5.2** décrit l'âge, classé par catégories de dix, des participants selon leur sexe. Le **tableau 5.3** décrit l'IMC des participants, classé selon les catégories de l'OMS (OMS, 1995), aussi selon leur sexe. Les distributions ne présentent pas de différences significatives.

**Tableau 5.2 Catégorie d'âge des participants selon le sexe**

Âge (années)	Hommes n = 146	Femmes n = 124
16 - 19	7	11
20 - 29	33	26
30 - 39	31	33
40 - 49	31	26
50 - 59	20	18
60 - 69	18	8
70 - 80	5	1
80 - 90	1	1

**Tableau 5.3 Catégorie d'IMC des participants selon le sexe**

IMC (kg/m <sup>2</sup> )	Hommes n = 146	Femmes n = 124
- de 16,5	0	0
16,5 à 18,5	2	4
18,5 à 25	93	76
25 à 30	45	26
30 à 35	6	14
35 à 40	0	3
40 et +	0	1

Le **tableau 5.4** présente les valeurs des variables confondantes des participants classées selon leur catégorie d'âge. La valeur médiane d'âge étant 40 ans, les participants ont été classés dans deux groupes, soit « - de 40 » et « 40 et + ». On observe des différences significatives au niveau de l'IMC ( $p = 0,000$ ) et du rythme cardiaque de repos ( $p = 0,007$ ). De plus, on peut observer des valeurs significativement plus élevées de pression artérielle systolique ( $p = 0,000$ ), de pression artérielle diastolique ( $p = 0,000$ ) et de pression artérielle moyenne ( $p = 0,000$ ) chez le groupe de participants plus âgé.

**Tableau 1.4 Variables confondantes selon la catégorie d'âge**

Variable	- de 40 n = 141	40 et + n = 129
IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )*	23,7 ± 3,2	25,6 ± 4,0
PA Systolique (mmHg)*	111,9 ± 13,3	124,5 ± 20,4
PA Diastolique (mmHg)*	65,4 ± 9,2	75,1 ± 11,6
PA Moyenne (mmHg)*	80,9 ± 8,9	91,6 ± 13,7
RC Repos**	74,9 ± 11,2	71,3 ± 10,6

\*  $p = 0,000$     \*\*  $p = 0,007$

Les valeurs de variables confondantes, selon la catégorie d'IMC, sont présentées dans le **tableau 5.5**. Prenant en compte la faible population classée dans les deux catégories inférieures et supérieures, seules les catégories centrales sont présentées. Il est possible d'observer des valeurs significativement plus élevées de pression artérielle systolique ( $p = 0,000$ ), de pression artérielle diastolique ( $p = 0,000$ ) et de pression artérielle moyenne ( $p = 0,000$ ) chez les participants ayant un IMC plus élevé. Dans le but de déterminer quels groupes étaient responsables des différences significatives, un



test post hoc de Tukey (HSD) a été effectué. En ce qui concerne la PA systolique, on peut observer une différence significative entre le groupe de 18,5 à 25 et le groupe 25 à 30 ( $p = 0,000$ ) ainsi qu'entre les groupes 18,5 à 25 et 30 à 35 ( $p = 0,000$ ). Pour la PA diastolique, on peut observer une différence significative entre le groupe de 18,5 à 25 et le groupe 25 à 30 ( $p = 0,000$ ), entre les groupes 18,5 à 25 et 30 à 35 ( $p = 0,000$ ) ainsi qu'entre les groupes 25 à 30 et 30 à 35 ( $p = 0,010$ ). De plus, on peut observer des différences significatives de PA moyenne, soit entre les groupes 18,5 à 25 et 25 à 30 ( $p = 0,000$ ) ainsi qu'entre les groupes 18,5 à 25 et 30 à 35 ( $p = 0,000$ ).

**Tableau 5.5 Variables confondantes selon la catégorie d'IMC**

Variable	18,5 à 25 n = 169	25 à 30 n = 71	30 à 35 n = 20
PA Systolique (mmHg)*	114,1 ± 16,4	124,8 ± 18,1	130,0 ± 22,1
PA Diastolique (mmHg)*	67,2 ± 10,5	73,7 ± 10,7	81,4 ± 8,7
PA Moyenne (mmHg)*	82,9 ± 11,4	90,7 ± 12,1	97,7 ± 12,4
RC Repos	72,7 ± 11,2	72,8 ± 10,4	76 ± 12

\*  $p = 0,000$

Le **tableau 5.6** montre les valeurs de variables confondantes selon la présence ou non de tabagisme. Les fumeurs et non-fumeurs présentent des valeurs semblables d'IMC, de pression artérielle systolique et de pression artérielle moyenne. Par contre, les non-fumeurs présentent des valeurs significativement plus élevées de pression artérielle diastolique ( $p = 0,015$ ) et de rythme cardiaque de repos ( $p = 0,000$ ).

**Tableau 5.6 Variables confondantes selon le tabagisme**

<b>Variable</b>	<b>Fumeurs n = 73</b>	<b>Non-fumeurs n = 197</b>
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	24,0 ± 2,9	24,9 ± 4,0
PA Systolique (mmHg)	116,2 ± 13,2	118,6 ± 19,7
PA Diastolique (mmHg)*	<b>67,2 ± 9,4</b>	<b>71,0 ± 12,0</b>
PA Moyenne (mmHg)	83,6 ± 9,4	86,9 ± 13,5
RC Repos**	<b>68,5 ± 10,7</b>	<b>75,0 ± 10,6</b>

\* p = 0,015    \*\* p = 0,000

Les valeurs représentant le stress oxydatif, selon le sexe, sont présentées dans le **tableau 5.7** Les hommes et les femmes présentent des valeurs similaires de NO, de MDA et de CAT. Par contre, on peut observer une différence significative pour les valeurs de GPx (p = 0,019).

**Tableau 5.7 Variables de stress oxydatif selon le sexe**

<b>Variabes</b>	<b>Hommes</b>	<b>Femmes</b>
NO (µM)	280,4 ± 267,7	270,6 ± 98,7
MDA (µM)	4,5 ± 3,2	4,3 ± 3,1
CAT (κ/gHb)	161,9 ± 64,5	172,0 ± 56,6
GPx (nmol NADPH/min/ml)*	<b>8,4 ± 2,5</b>	<b>9,4 ± 2,3</b>

\* p = 0,019

Le **tableau 5.8** décrit les valeurs de stress oxydatif selon le groupe d'âge. Les deux groupes montraient des valeurs semblables de MDA, de CAT et de GPx. En outre, on peut remarquer des valeurs de NO ( $p = 0,014$ ) significativement plus élevées chez le groupe plus âgé.

**Tableau 5.8 Variables de stress oxydatif selon le groupe d'âge**

Variables	- de 40	40 et +
NO ( $\mu\text{M}$ )*	237,0 $\pm$ 94,4	318,4 $\pm$ 278,6
MDA ( $\mu\text{M}$ )	4,4 $\pm$ 3,1	4,4 $\pm$ 3,3
CAT ( $\kappa/\text{gHb}$ )	174,4 $\pm$ 71,6	158,9 $\pm$ 47,3
GPx (nmol NADPH/min/ml)	9,1 $\pm$ 2,3	8,7 $\pm$ 2,5

\*  $p = 0,014$

Le **tableau 5.9** expose les valeurs de stress oxydatif selon le tabagisme. Les deux groupes avaient des données comparables pour le NO, le MDA et le GPx. Par contre, on peut remarquer des valeurs significativement plus élevées de CAT ( $p = 0,003$ ) chez les participants non-fumeurs.

**Tableau 5.9 Variables de stress oxydatif selon le tabagisme**

<b>Variables</b>	<b>Fumeurs</b>	<b>Non-fumeurs</b>
NO ( $\mu\text{M}$ )	253,9 $\pm$ 136,9	284,1 $\pm$ 228,3
MDA ( $\mu\text{M}$ )	4,2 $\pm$ 3,5	4,5 $\pm$ 3,1
CAT ( $\kappa/\text{gHb}$ )*	<b>142,2 <math>\pm</math> 26,6</b>	<b>176,1 <math>\pm</math> 67,6</b>
GPx (nmol NADPH/min/ml)	8,6 $\pm$ 2,8	9,0 $\pm$ 2,3

\* p = 0,003

Les valeurs de VRC sont présentées, selon le sexe, dans le **tableau 5.10**. Les deux groupes ont des valeurs semblables de rMSSD, de pNN50 et de HF ( $\text{ms}^2$ ). Par contre, pour les valeurs temporelles, on observe un RR moyen (p = 0,000) et un SDNN (p = 0,000) plus élevé chez les hommes. De plus, on observe aussi des valeurs spectrales significativement plus élevées chez les hommes, tels les BF ( $\text{ms}^2$ ) (p = 0,000), le ratio BF/HF (p = 0,001), les TBF (p = 0,000) et les BF (UN) (p = 0,000). À l'inverse, on observe une différence significative pour les valeurs de HF (NU) (p = 0,001) qui sont plus élevées chez les femmes.

**Tableau 5.10 Variables de VRC selon le sexe**

<b>Variabiles</b>	<b>Hommes</b> <b>n = 146</b>	<b>Femmes</b> <b>n = 124</b>
RR Moyen (ms)*	<b>883,5 ± 129,3</b>	<b>787,0 ± 108,1</b>
SDNN (ms)*	<b>64,3 ± 23,6</b>	<b>53,5 ± 18,9</b>
rMSSD (ms)	35,1 ± 19,3	34,3 ± 22,2
pNN50 (%)	6,3 ± 6,7	6,1 ± 7,6
BF (ms <sup>2</sup> )*	<b>920,1 ± 776,2</b>	<b>612,9 ± 489,4</b>
HF (ms <sup>2</sup> )	496,7 ± 599	519,1 ± 590,8
BF/HF (ms <sup>2</sup> )**	<b>3,2 ± 2,8</b>	<b>2,2 ± 1,8</b>
TBF (ms <sup>2</sup> )*	<b>36603,1 ± 24809</b>	<b>25910,3 ± 18718,5</b>
BF (UN)*	<b>67,9 ± 15,4</b>	<b>61,1 ± 16,3</b>
HF (UN)**	<b>32,1 ± 15,4</b>	<b>38,9 ± 16,3</b>

\* p = 0,000 \*\* p = 0,001

Le **tableau 5.11** présente les valeurs de VRC selon le groupe d'âge. Le groupe plus âgé montre des valeurs significativement plus élevées de RR moyen (p = 0,008), de ratio BF/HF (p = 0,000) et de BF (UN) (p = 0,000). Inversement, on peut observer, chez le groupe plus jeune, des valeurs significativement plus élevées de SDNN (p = 0,000), de rMSSD (p = 0,000), de pNN50 (p = 0,000), de BF (ms<sup>2</sup>) (p = 0,000), de HF (ms<sup>2</sup>) (p = 0,000), de TBF (p = 0,000) et de HF (UN) (p = 0,000).

**Tableau 5.11 Variables de VRC selon la catégorie d'âge**

Variables	- de 40 n = 141	40 et + n = 129
RR Moyen (ms)**	819,4 ± 127,5	861,3 ± 128
SDNN (ms)*	66,4 ± 21,3	51,6 ± 20,5
rMSSD (ms)*	42,3 ± 22,0	26,5 ± 15,4
pNN50 (%)*	8,9 ± 8	3,3 ± 4,4
BF (ms <sup>2</sup> )*	1004,0 ± 750,8	533,1 ± 478,5
HF (ms <sup>2</sup> )*	725,9 ± 680,2	267,8 ± 354,4
BF/HF (ms <sup>2</sup> )*	2,1 ± 2	3,3 ± 2,7
TBF (ms <sup>2</sup> )*	37226,8 ± 23414	25642,9 ± 20581,2
BF (UN)*	60,5 ± 16	69,5 ± 15
HF (UN)*	39,5 ± 16	30,5 ± 15

\* p = 0,000 \*\* p = 0,008

Le **tableau 5.12** montre les valeurs de VRC selon la catégorie d'IMC. Encore une fois, compte tenu de la faible population classée dans les deux catégories inférieures et supérieures, seules les catégories centrales sont présentées. Dans le but de déterminer quels groupes étaient responsables des différences significatives, un test post hoc de Tukey (HSD) a été effectué. Il est possible d'observer un rMSSD ( $p = 0,009$ ) et un pNN50 ( $p = 0,020$ ) significativement plus faible chez les participants étant classés dans le groupe de 25 à 30 lorsque comparé au groupe 18,5 à 25. À l'inverse, ces derniers obtiennent un ratio BF/HF significativement plus faible ( $p = 0,006$ ) lorsque comparé au groupe 25 à 30.

**Tableau 5.12 Variables de VRC selon la catégorie d'IMC**

<b>Variabiles</b>	<b>18,5 à 25</b> <b>n = 169</b>	<b>25 à 30</b> <b>n = 71</b>	<b>30 à 35</b> <b>n = 20</b>
RR Moyen (ms)	844,2 ± 132,3	839,6 ± 119,1	809,4 ± 123,5
SDNN (ms)	61,8 ± 22,5	57,2 ± 22,5	51,9 ± 15,4
rMSSD (ms)*	<b>38,1 ± 22,1</b>	<b>29,5 ± 17,9</b>	27,8 ± 11,2
pNN50 (%)**	<b>7,2 ± 7,5</b>	<b>4,6 ± 6,6</b>	4,2 ± 4,3
BF (ms <sup>2</sup> )	864,0 ± 734,4	676,7 ± 580,6	602,4 ± 474,4
HF (ms <sup>2</sup> )	586,3 ± 628,9	406,8 ± 566,6	257,5 ± 223,4
BF/HF (ms <sup>2</sup> )***	<b>2,4 ± 1,7</b>	<b>3,4 ± 3,5</b>	3,3 ± 2,8
TBF (ms <sup>2</sup> )	33589 ± 23673,7	29134,3 ± 22642,5	28521,5 ± 16789,3
BF (UN)	62,9 ± 16,4	67,9 ± 15,4	70 ± 13,7
HF (UN)	37,1 ± 16,4	32,1 ± 15,4	30,1 ± 13,7

\* p = 0,009    \*\* p = 0,020    \*\*\* p = 0,006

Le **tableau 5.13** permet d'observer les valeurs de VRC selon le tabagisme. Le groupe des fumeurs montre des valeurs de RR moyen (p = 0,000) et de SDNN (p = 0,039) significativement plus élevées. Aucune différence significative n'est observée pour les valeurs de rMSSD, pNN50, BF (ms<sup>2</sup>), HF (ms<sup>2</sup>), BF/HF, TBF, BF (UN) et HF (UN).

**Tableau 5.13 Variables de VRC selon le tabagisme**

Variables	Fumeur n = 73	Non-fumeur n = 197
RR Moyen (ms)*	896,1 ± 135	818,2 ± 120,6
SDNN (ms)**	63,9 ± 22,5	57,6 ± 21,9
rMSSD (ms)	36,8 ± 20	34 ± 20,9
pNN50 (%)	7,3 ± 7,6	5,8 ± 6,9
BF (ms <sup>2</sup> )	851,4 ± 737,8	752,2 ± 652,5
HF (ms <sup>2</sup> )	577 ± 670,6	481,1 ± 563
BF/HF (ms <sup>2</sup> )	2,5 ± 1,9	2,8 ± 2,6
TBF (ms <sup>2</sup> )	35727,3 ± 23529,2	30197,1 ± 22419,8
BF (UN)	64 ± 15,7	65,1 ± 16,4
HF (UN)	36 ± 15,7	34,9 ± 16,4

\* p = 0,000 \*\* p = 0,039

Le **tableau 5.14** présente les valeurs de VRC selon la présence ou non d'hypertension. Ont été classés dans le groupe hypertendu les participants présentant une pression artérielle systolique supérieure à 139 mmHg et/ou une pression artérielle diastolique supérieure à 89 mmHg (Chobanian *et al.*, 2003). On observe des valeurs temporelles significativement plus élevées de SDNN (p = 0,000), de rMSSD (p = 0,001) et de pNN50 (p = 0,001) chez les sujets ne souffrant pas d'hypertension. De plus, ces derniers présentent aussi des valeurs spectrales de BF (ms<sup>2</sup>) (p = 0,000), de HF (ms<sup>2</sup>) (p = 0,001) et de TBF (p = 0,002) significativement plus élevées que les participants hypertendus.



**Tableau 5.14 Variables de VRC selon l'hypertension**

<b>Variabiles</b>	<b>Hypertendus n = 35</b>	<b>Non-hypertendus n = 235</b>
RR Moyen (ms)	816,2 ± 108,5	842,7 ± 131,8
SDNN (ms)*	45,3 ± 20	61,4 ± 21,8
rMSSD (ms)**	24,3 ± 15,6	36,3 ± 20,9
pNN50 (%)**	2,4 ± 3,3	6,8 ± 7,3
BF (ms <sup>2</sup> )*	407,5 ± 418,8	834,3 ± 690,7
HF (ms <sup>2</sup> )**	210 ± 273,6	551,3 ± 616,4
BF/HF (ms <sup>2</sup> )	3,1 ± 2,5	2,7 ± 2,4
TBF (ms <sup>2</sup> )***	20807,8 ± 21480,6	33313,4 ± 22603,7
BF (UN)	68,3 ± 16	64,3 ± 16,2
HF (UN)	31,8 ± 16	35,7 ± 16,2

\* p = 0,000 \*\* p = 0,001 \*\*\* p = 0,002

Les coefficients de corrélation entre les valeurs de VRC et le NO sont présentés au **tableau 5.15**. Il est possible d'observer de faibles corrélations inverses statistiquement significatives entre le NO et le SDNN ( $r = -0,219$   $p = 0,006$ ), les BF (ms<sup>2</sup>) ( $r = -0,181$   $p = 0,024$ ) et les TBF ( $r = -0,201$   $p = 0,012$ ). Il n'a pas été possible d'observer d'autres corrélations significatives lorsqu'on contrôlait pour l'âge, le sexe, l'IMC, la tension artérielle (systolique, diastolique et moyenne) et le tabagisme.

**Tableau 5.15** Corrélations entre les variables de VRC et le NO

Variables	r n = 155	p n = 155
RR Moyen (ms)	-,023	,772
SDNN (ms)**	<b>-,219</b>	<b>,006</b>
rMSSD (ms)	-,149	,064
pNN50 (%)	-,152	,060
BF (ms <sup>2</sup> )*	<b>-,181</b>	<b>,024</b>
HF (ms <sup>2</sup> )	-,154	,056
BF/HF (ms <sup>2</sup> )	-,009	,909
TBF (ms <sup>2</sup> )*	<b>-,201</b>	<b>,012</b>
BF (UN)	-,033	,680
HF (UN)	,033	,681

\*\* p < 0,01 \* p < 0,05

Le **tableau 5.16** expose les coefficients de corrélation entre les valeurs de VRC et le MDA. On peut voir une faible corrélation significative entre le MDA et les TBF ( $r = 0,140$   $p = 0,032$ ). Il n'a pas été possible d'observer d'autres corrélations significatives lorsqu'on contrôlait pour l'âge, le sexe, l'IMC, la tension artérielle (systolique, diastolique et moyenne) et le tabagisme.

**Tableau 5.16 Corrélations entre les variables de VRC et le MDA**

Variables	r n = 235	p n = 235
RR Moyen (ms)	,005	,938
SDNN (ms)	,092	,160
rMSSD (ms)	,015	,819
pNN50 (%)	,032	,629
BF (ms <sup>2</sup> )	-,039	,098
HF (ms <sup>2</sup> )	,012	,851
BF/HF (ms <sup>2</sup> )	,062	,344
TBF (ms <sup>2</sup> )*	<b>,140</b>	<b>,032</b>
BF (UN)	,038	,559
HF (UN)	,108	,552

\* p < 0,05

Le **tableau 5.17** et le **tableau 5.18** montrent les coefficients de corrélation entre les valeurs de VRC et de CAT et entre les valeurs de VRC et de GPx, respectivement. Aucune corrélation significative ne peut être observée. Il n'a pas été possible d'observer d'autres corrélations significatives lorsqu'on contrôlait pour l'âge, le sexe, l'IMC, la tension artérielle (systolique, diastolique et moyenne) et le tabagisme.

Tableau 5.17 Corrélations entre les variables de VRC et la CAT

Variables	r	p
	n = 140	n = 140
RR Moyen (ms)	-,157	,065
SDNN (ms)	,008	,927
rMSSD (ms)	,040	,636
pNN50 (%)	-,025	,773
BF (ms <sup>2</sup> )	-,018	,833
HF (ms <sup>2</sup> )	,043	,618
BF/HF (ms <sup>2</sup> )	-,150	,077
TBF (ms <sup>2</sup> )	-,048	,571
BF (UN)	-,153	,072
HF (UN)	,154	,068

**Tableau 5.18** Corrélations entre les variables de VRC et le GPx

Variables	r n = 140	p n = 140
RR Moyen (ms)	-,090	,290
SDNN (ms)	-,020	,819
rMSSD (ms)	,074	,387
pNN50 (%)	,001	,987
BF (ms <sup>2</sup> )	-,052	,543
HF (ms <sup>2</sup> )	,086	,314
BF/HF (ms <sup>2</sup> )	-,032	,710
TBF (ms <sup>2</sup> )	-,020	,814
BF (UN)	-,095	,266
HF (UN)	,096	,261

En dernier lieu, une analyse en composantes principales a été effectuée dans le but de réduire le nombre de variables et d'isoler des facteurs permettant l'identification de mécanismes pouvant expliquer les résultats. Les variables formant les trois facteurs obtenus sont indiquées dans le **tableau 5.19**. Il est à noter que la variable HF (UN) a été exclue de l'analyse, puisque celle-ci est inversement proportionnelle à la variable BF (UN). Un score, chacun attribué à un des trois facteurs, a été créé pour chaque participant lors de l'analyse. Le **tableau 5.20** présente les valeurs propres initiales de l'analyse; le **tableau 5.21** présente la matrice des composantes (factor loadings) après une rotation Varimax. Les coefficients de corrélation entre les scores et les variables de stress oxydatif sont présentés dans le **tableau 5.22**.

**Tableau 5.19 Variables incluses dans les facteurs de l'analyse en composantes principales**

<b>Facteur 1</b>	<b>Facteur 2</b>	<b>Facteur 3</b>
BF/HF	SDNN	RC Repos
BF (UN)	BF (ms <sup>2</sup> )	RR Moyen
	TBF	

**Tableau 5.20 Valeurs propres initiales de l'analyse en composantes principales**

<b>Facteur</b>	<b>Total</b>	<b>% de variance</b>	<b>% cumulatif</b>
1	3,676	45,952	45,952
2	2,479	30,987	76,939
3	1,228	15,350	92,289
4	0,289	3,611	95,901
5	0,218	2,725	98,626
6	0,089	1,117	99,742
7	0,021	0,256	99,999
8	8,890 <sup>E</sup> -5	0,001	100,000

**Tableau 5.21 Matrice des composantes (factor loadings)**

Variable	Facteur 1	Facteur 2	Facteur 3
RC Repos	0,111	-0,228	-0,962
RR Moyen	-0,113	0,235	0,959
SDNN	-0,200	0,897	0,282
BF (ms <sup>2</sup> )	0,062	0,922	0,103
TBF	-0,011	0,926	0,204
BF/HF	0,887	-0,063	-0,081
BF (UN)	0,975	-0,023	-0,093

**Tableau 5.22 Corrélations entre les facteurs et les variables de stress oxydatif**

Variabes	Facteur 1	Facteur 2	Facteur 3
NO (μM)	-,031	-,222**	,036
MDA (μM)	,050	,129*	-,015
CAT (κ/gHb)	-,181*	,008	-,179*
GPx (nmol NADPH/min/ml)	-,091	-,014	-,121

\*\* p < 0,01 \* p < 0,05

## VII. DISCUSSION

Les résultats de notre étude ne nous permettent pas d'atteindre l'objectif établi au départ, qui était, par l'analyse a posteriori d'une base de données, de démontrer un lien entre le stress oxydatif et le système nerveux autonome. Bien qu'on puisse remarquer des corrélations significatives entre le NO et trois mesures de la VRC, ces corrélations demeurent trop faibles pour qu'elles puissent être considérées comme importantes. Néanmoins, le coefficient de détermination explique 5% de la variance. Dans une étude comparant deux bêtabloquants, il a été démontré que le Nebivolol, médication qui augmente la biodisponibilité du NO, augmentait significativement la composante temporelle SDNN (Chiladakis, Georgiopoulou et Alexopoulos, 2004). Nos résultats, qui montrent une corrélation inverse significative entre le NO et le SDNN, ne concordent pas, puisqu'on pourrait s'attendre à une corrélation positive. Ce résultat pourrait s'expliquer par l'influence possible du NO sur le rythme cardiaque (Paton, Kasparov et Paterson, 2002) qui, lui, corrèle négativement avec le SDNN ( $r = -0,496$   $p = 0,000$ ). Nous n'avons toutefois pu observer aucune corrélation significative entre le NO et le rythme cardiaque de repos; il serait toutefois intéressant d'observer les interactions de ces trois variables en situation d'effort. En outre, nous pouvons observer un lien entre le NO et les BF ( $ms^2$ ), qui diminuent lorsque la quantité de NO augmente. Cette observation est en accord avec la littérature, puisque le NO agit présynaptiquement en inhibant la neurotransmission sympathique, dont les BF sont indicatrices, au niveau cardiaque (Danson, Choate et Paterson, 2005). Bien que la signification physiologique des TBF demeure nébuleuse, une récente étude les a décrites comme subissant une influence vagale importante; on les avait précédemment mises en lien avec la respiration et la thermorégulation (Tripathi, 2011). La faible corrélation observée entre le NO et les TBF, ajoutée au fait que la signification physiologique de ces dernières n'est pas encore bien définie, ne nous permet pas d'interpréter ce résultat de façon intéressante. Une corrélation entre le NO et les HF ( $ms^2$ ) et HF (UN) telle que décrite par Chowdhary (Chowdhary et



et les HF ( $\text{ms}^2$ ) et HF (UN) telle que décrite par Chowdhary (Chowdhary et Townend, 1999) n'a pu être observée. Nos résultats sont confirmés par l'analyse en composantes principales, puisqu'il est possible d'observer une faible corrélation inverse significative entre le NO et le facteur 2, qui inclut les composantes SDNN, BF ( $\text{ms}^2$ ) et TBF.

Bien que l'évaluation de la concentration de NO par la mesure des nitrites et des nitrates dans le plasma sanguin est fiable et reproductible (Barbosa, 2006), la nature du monoxyde d'azote fait en sorte que des mesures prises loin du point d'intérêt, en l'occurrence du cœur, peuvent manquer de précision. En effet, vu la durée de vie d'environ une seconde du NO (Pacher, Beckman et Liaudet, 2007), ses actions sont limitées temporellement et spatialement, une molécule ne pouvant avoir qu'une influence sur un endroit très rapproché de son lieu de synthèse (Ignarro *et al.*, 1993). Dans cette optique, une quantification in situ du NO (au niveau du péricarde ou d'une artère coronaire), par mesure directe ou par évaluation selon les taux sanguins de nitrites et de nitrates, serait plus appropriée. De plus, la mesure in situ du nNOS pourrait aussi être intéressante. En effet, cette enzyme est essentielle à la biodisponibilité du NO et est associée à une régulation parasympathique accentuée (Danson, Choate et Paterson, 2005). De plus, il a été démontré que son inhibition cause une chute importante de la bradycardie d'influence vagale chez les furets et les cobayes communs (Conlon et Kidd, 1999). Cependant, les niveaux cardiaques de nNOS ne corrèlent pas toujours avec la biodisponibilité absolue du NO (Piech *et al.*, 2003). Ceci s'explique par le fait que l'activité du nNOS est très sensible aux changements oxydatifs; l'enzyme produit plus de NO lorsque la quantité de SOD est élevée et lorsque le niveau de stress oxydatif est bas (Danson, Choate et Paterson, 2005). À l'inverse, lorsque le niveau de stress oxydatif est élevé, le nNOS produit plus de DRO, tel le  $\text{NO}^-$  et le  $\text{ONOO}^-$  (Schmidt *et al.*, 1996). En deuxième lieu, une absence d'un ou de plusieurs cofacteurs nécessaires à la formation de NO, notamment du  $\text{BH}_4$ , amène le nNOS à produire du superoxyde au lieu du NO (Cosentino *et al.*,

2001). De plus, la biodisponibilité du NO diminue radicalement lors de la présence de  $O_2^{\cdot-}$ , puisque ce dernier forme, en se combinant au NO, du ONOO $\cdot$  (Pacher, Beckman et Liaudet, 2007). En plus de la mesure du nNOS, les mesures de l'enzyme SOD et du DRO  $O_2^{\cdot-}$  au niveau cardiaque apparaissent intéressantes, puisqu'ils agissent tous non seulement l'un sur l'autre, mais aussi sur la biodisponibilité du NO.

Par ailleurs, un autre de nos objectifs était de démontrer une association entre le MDA, un des principaux biomarqueurs du stress oxydatif (Del Rio, Stewart et Pellegrini, 2005), et certaines variables de la VRC. En effet, le groupe de Pavithran (Pavithran *et al.*, 2008) a observé des corrélations inverses significatives entre le MDA et le SDNN, le rMSSD, les HF ( $ms^2$ ) et les HF (UN) ainsi qu'une corrélation avec les BF (UN). Ces résultats concordent avec la théorie selon laquelle le stress oxydatif influe positivement sur la neurotransmission sympathique et négativement sur la neurotransmission parasympathique. Cependant, nous n'avons pas été en mesure d'obtenir les mêmes corrélations; seule une faible corrélation significative entre le MDA et les TBF peut être observée. Comme mentionné précédemment, la signification des TBF demeure incertaine, il nous est donc impossible d'interpréter cette corrélation de façon intéressante.

Les enzymes antioxydantes catalase et glutathion peroxydase ont comme fonction de réduire les DRO et de maintenir l'homéostasie oxydative. Ils sont aussi utilisés comme biomarqueurs de stress oxydatif (Darie *et al.*, 1998) et la présence accrue de ce dernier est souvent reliée à un taux faible d'enzymes antioxydantes (Vives-Bauza, Starkov et Garcia-Arumi, 2007). Nous n'avons pu observer aucune corrélation significative entre la CAT et les variables de VRC. Toutefois, avec l'analyse en composantes principales, il est possible d'observer une faible corrélation inverse significative entre la CAT et le facteur 1 qui inclut les composantes BF/HF et BF (UN). Bien que faible, cette corrélation est conforme à nos attentes. Par contre, il demeure impossible d'extrapoler sur ce résultat de par son faible coefficient de

corrélation. De plus, aucune corrélation significative n'a pu être observée entre le GPx et les valeurs de VRC.

D'autre part, un des avantages méthodologiques de cette étude est la quantification des DRO selon un échantillon unique de plasma sanguin, ce qui peut permettre une meilleure observation des liens unissant le NO, le MDA, la CAT et le GPx. Cependant, nous n'avons observé aucune corrélation entre les quatre biomarqueurs de stress oxydatif. De plus, l'analyse en composante principale, effectuée sur l'ensemble de nos variables, confirme l'absence de lien unissant les quatre biomarqueurs. Ce résultat nous porte à croire que l'étude de ces biomarqueurs est plus appropriée lors d'études expérimentales sur une population présentant des caractéristiques plus homogènes ou souffrant d'une certaine pathologie particulière.

En outre, bien que la méthodologie utilisée pour mesurer la VRC, en l'occurrence un enregistrement de 20 minutes en position assise, soit fiable (Vanderlei *et al.*, 2008), elle peut mener à certaines variations des résultats, notamment une augmentation des BF (UN) due à la position du corps (Montano *et al.*, 1994). Les standards recommandent une mesure en position couchée (supination) et un enregistrement de 5 minutes pour l'obtention de valeurs spectrales et un enregistrement de 24 heures, sans restriction de position, pour l'obtention de valeurs temporelles (TFESC, 1996). Bien que cette méthodologie puisse être sujette à quelques modifications sans nuire à la validité des résultats, une position couchée nous apparaît importante lors d'enregistrements courts.

Par ailleurs, bien que les participants de l'étude provenaient tous d'une communauté riparienne au mode de vie similaire, la population montrait plusieurs caractéristiques hétérogènes, principalement l'âge et l'IMC. De plus, leur alimentation, en grande partie composée de poisson, variait également. La consommation de poisson est bénéfique pour la santé cardiaque, principalement à cause des acides gras Omega-3 (Stone, 1996). Par contre, le mercure présent dans le poisson peut réduire les effets bénéfiques de la consommation de poisson, et même mettre en péril la santé

cardiaque (Chan et Egeland, 2004). Un taux de mercure capillaire plus élevé a aussi été associé à des HF ( $\text{ms}^2$ ) diminuées lors d'une analyse de la VRC (Lim, Chung et Paek, 2010). Le poisson de la région étudiée contient des quantités importantes de mercure; cette contamination est principalement due à l'industrie minière et à la déforestation (Passos et Mergler, 2008). La population étudiée, grande consommatrice de poisson, ingère en moyenne  $0,92 \mu\text{g/kg/jour}$  de mercure, alors que la limite recommandée par l'OMS est de  $0,23 \mu\text{g/kg/jour}$  (Passos *et al.*, 2008). L'alimentation, tout comme l'âge et l'IMC, variait d'un participant à l'autre et la comparaison des taux de mercure avec les valeurs de VRC serait une avenue intéressante à explorer dans le futur.

Par ailleurs, le grand nombre de participants et de données recueillies lors de cette étude nous a permis d'observer certaines différences significatives en comparant différents groupes. En ce qui concerne l'IMC, nous avons pu observer qu'il est plus élevé chez les sujets plus âgés, ce qui est conséquent avec la littérature en épidémiologie (Reas *et al.*, 2007). Concernant la tension artérielle, nous pouvons observer qu'elle est plus élevée chez les hommes (systolique) ainsi que chez les sujets plus âgés (systolique et diastolique), ce qui correspond aussi à la littérature (Burt *et al.*, 1995); la pression diastolique plus élevée observée chez les femmes ne correspond cependant pas à la littérature. De plus, on observe une tension artérielle plus élevée chez les sujets se trouvant dans une catégorie d'IMC supérieure, ce qui est en accord avec la littérature (Chirinos *et al.*, 2009). Par contre, il est possible d'observer une tension artérielle plus élevée chez les sujets non-fumeurs, la littérature va pourtant à l'encontre de ces résultats (Seki *et al.*, 2010). Il est aussi possible d'observer un rythme cardiaque de repos plus élevé chez les femmes, les participants faisant partie du groupe d'âge le plus jeune et les non-fumeurs; ces résultats ne concordent pas avec la littérature, puisque l'âge et le sexe du participant n'a habituellement pas d'influence significative sur le RC de repos (Gillum, 1988) et que ce dernier est généralement plus élevé chez les fumeurs (Moolchan *et al.*, 2004). Il serait

intéressant d'étudier plus en détail les causes de ces résultats dans une étude subséquente.

Lorsqu'on observe les valeurs de stress oxydatif, on peut s'apercevoir que certaines d'entre elles varient aussi dans différents groupes. Par exemple, les niveaux de GPx sont significativement plus élevés chez les femmes, ce qui concorde avec la littérature (Mendoza-Nunez *et al.*, 2010). De plus, les niveaux de l'enzyme CAT sont significativement plus faibles chez les fumeurs, ce qui correspond aussi à la littérature (Zawadzki *et al.*, 2008). En ce qui concerne le NO, on observe des taux significativement plus faibles chez les participants du groupe plus âgé, ce qui concorde aussi avec la littérature (Toprakci *et al.*, 2000). D'ailleurs, ce phénomène est mis en cause dans la genèse de plusieurs maladies apparaissant à un âge avancé et dans la théorie du vieillissement (Afanas'ev, 2009).

Si l'on compare nos résultats de VRC selon différents groupes, il est possible d'observer des résultats intéressants. Une vaste étude observatoire (Zhang, 2007) étudiant la VRC selon l'âge et le sexe a pu observer des différences significatives dans les valeurs spectrales entre les hommes et les femmes, mais aucune différence au niveau des valeurs temporelles. Nos résultats sont similaires au niveau des fréquences, ce qui suggère une plus forte influence du parasympathique chez les femmes. Par contre, les femmes de notre étude montrent en moyenne un SDNN plus faible que celui des hommes, ce qui ne concorde pas avec la littérature. Outre par les valeurs de BF ( $\text{ms}^2$ ), qui corrélaient fortement avec les valeurs de SDNN, plus élevées chez les femmes, ce résultat est difficilement explicable. D'autre part, la même étude montre des valeurs de SDNN et de toutes les fréquences absolues ( $\text{ms}^2$ ) significativement plus faibles chez les personnes plus âgées, ce qui démontre une VRC réduite avec l'âge. Ces résultats concordent avec les nôtres. Cependant, ces derniers tendent à montrer une influence diminuée du parasympathique avec l'âge, ce que l'étude de Zhang ne peut observer, mais que nos résultats démontrent. De plus, bien qu'une étude antérieure (Antelmi *et al.*, 2004) n'ait pas observé de corrélation

entre la VRC et l'IMC, une plus récente étude (Molfino *et al.*, 2009) montre des HF (UN) réduites chez des participants ayant un IMC plus élevé, ce qui est signe d'une activité parasympathique réduite. Nos résultats sont similaires, puisqu'on peut observer, chez les participants ayant un IMC plus élevé, un ratio BF/HF significativement plus élevé ainsi qu'un rMSSD et un pNN50, qui corrélaient positivement avec les HF, significativement plus bas. Par ailleurs, nous avons pu observer un SDNN significativement plus élevé chez les fumeurs, ce qui va à l'opposé des résultats généralement observés (Pope *et al.*, 2001) (Wilson *et al.*, 2010). Cependant, il faut noter que les fumeurs de l'échantillon étudié fumaient en moyenne moins de 10 cigarettes par jour, ce qui est moins que la moyenne habituellement observée dans la littérature. Nos résultats montrent aussi des variables de VRC temporelles et spectrales significativement réduites chez les participants souffrant d'hypertension, ce qui correspond à la littérature (Terathongkum et Pickler, 2004).

En observant la majorité de nos résultats, nous pouvons constater qu'ils concordent, pour la plupart, avec la littérature. Malgré ce fait, aucune corrélation forte significative n'a pu être observée entre les valeurs de VRC et de stress oxydatif. Des études quantifiant mieux le NO, ainsi que ses précurseurs et les autres structures modulant sa biodisponibilité, sont recommandées dans le but de pouvoir mieux observer l'influence du stress oxydatif sur la VRC.

## CONCLUSION

Les maladies cardiaques sont la principale cause de mortalité mondiale et le resteront, selon les prédictions, pour plusieurs années futures. Deux des causes majeures de ces maladies sont le stress oxydatif et une dysfonction du système nerveux autonome. Malgré plusieurs études démontrant les effets du NO sur le système nerveux autonome, le lien entre ce dernier et le stress oxydatif demeure nébuleux. L'objectif de cette étude était d'étudier le lien entre le stress oxydatif, exprimé à l'aide de quatre biomarqueurs, et l'activité du système nerveux autonome, exprimé à l'aide de la variabilité du rythme cardiaque. Démontrer un tel lien dans une population hétérogène asymptomatique aurait été une première étape dans l'étude d'un mécanisme complexe impliquant plusieurs substances dans différents systèmes du corps. Nos résultats démontrent que les différences observées entre différents groupes sont, pour la plupart, conformes à la littérature. Malgré ce fait, l'objectif fixé, soit celui de trouver certaines corrélations fortes et significatives entre les valeurs de stress oxydatif et de VRC, n'a pu être atteint. De plus, aucun des marqueurs de stress oxydatif ne corrélaient ensemble, malgré le fait qu'ils aient été analysés à partir du même échantillon sanguin. Cette observation nous amène à conclure que l'étude du stress oxydatif serait plus appropriée dans un contexte d'étude expérimentale. Par contre, l'étude des mécanismes du NO et de ses effets sur le système nerveux autonome, ainsi que sur la VRC, demeure un champ intéressant nécessitant des recherches plus approfondies. Les interactions entre le NO, le nNOS et le superoxyde ainsi que leurs effets sur le SNA sont particulièrement intéressants et leur étude pourrait mener à une meilleure connaissance des modulations du SNA. Une telle avancée serait une étape importante dans la prévention et le traitement potentiel des maladies cardiaques.

## BIBLIOGRAPHIE

- Aebi, H. 1984. «Catalase *in vitro*». *Meth. Enzymol.*, vol. 105, p. 121-126.
- Afanas'ev, I. 2009. «Superoxide and nitric oxide in senescence and aging». *Front Biosci*, vol. 14, p. 3899-3912.
- Akbulut, H., K. G. Akbulut, F. Icli et A. Buyukcelik. 2003. «Daily variations of plasma malondialdehyde levels in patients with early breast cancer». *Cancer Detect Prev*, vol. 27, no 2, p. 122-126.
- Alvarez, B., et R. Radi. 2003. «Peroxynitrite reactivity with amino acids and proteins». *Amino Acids*, vol. 25, no 3-4, p. 295-311.
- Antelmi, I., R. S. de Paula, A. R. Shinzato, C. A. Peres, A. J. Mansur et C. J. Grupi. 2004. «Influence of age, gender, body mass index, and functional capacity on heart rate variability in a cohort of subjects without heart disease». *Am J Cardiol*, vol. 93, no 3, p. 381-385.
- Appenzeller, O. 1997. *The Autonomic Nervous System: An Introduction to Basic and Clinical Concepts*, 5e édition. Amsterdam: Elsevier Biomedical Press p.
- Bakan, E., S. Taysi, M. F. Polat, S. Dalga, Z. Umudum, N. Bakan et M. Gumus. 2002. «Nitric oxide levels and lipid peroxidation in plasma of patients with gastric cancer». *Jpn J Clin Oncol*, vol. 32, no 5, p. 162-166.
- Bakan, N., S. Taysi, O. Yilmaz, E. Bakan, S. Kuskay, N. Uzun et M. Gundogdu. 2003. «Glutathione peroxidase, glutathione reductase, Cu-Zn superoxide dismutase activities, glutathione, nitric oxide, and malondialdehyde concentrations in serum of patients with chronic lymphocytic leukemia». *Clin Chim Acta*, vol. 338, no 1-2, p. 143-149.
- Bannister, R. 1988. *Autonomic Failure. A textbook of clinical disorders of the autonomic nervous system*. New York: Oxford University Press p.
- Barbosa, F. Jr. Sandrim, V.C. Uzuelli, J.A. Gerlach, R.F. Tanus-Santos, J.E. 2006. «eNOS genotype-dependent correlation between whole blood lead and plasma nitric oxide products concentrations». *Nitric Oxide*, vol. 14, p. 58-64.
- Beckman, J. S., et W. H. Koppenol. 1996. «Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly». *Am J Physiol*, vol. 271, no 5 Pt 1, p. C1424-1437.
- Bellavere, F., I. Balzani, G. De Masi, M. Carraro, P. Carezza, C. Cobelli et K. Thomaseth. 1992. «Power spectral analysis of heart-rate variations improves assessment of diabetic cardiac autonomic neuropathy». *Diabetes*, vol. 41, no 5, p. 633-640.
- Bigger, J. T., Jr., J. L. Fleiss, L. M. Rolnitzky et R. C. Steinman. 1993. «Frequency domain measures of heart period variability to assess risk late after myocardial infarction». *J Am Coll Cardiol*, vol. 21, no 3, p. 729-736.
- Bigger, J. T., Jr., J. L. Fleiss, L. M. Rolnitzky, R. C. Steinman et W. J. Schneider. 1991. «Time course of recovery of heart period variability after myocardial infarction». *J Am Coll Cardiol*, vol. 18, no 7, p. 1643-1649.



- Bigger, J. T., Jr., R. E. Kleiger, J. L. Fleiss, L. M. Rolnitzky, R. C. Steinman et J. P. Miller. 1988. «Components of heart rate variability measured during healing of acute myocardial infarction». *Am J Cardiol*, vol. 61, no 4, p. 208-215.
- Bigger, J. T., Jr., L. M. Rolnitzky, R. C. Steinman et J. L. Fleiss. 1994. «Predicting mortality after myocardial infarction from the response of RR variability to antiarrhythmic drug therapy». *J Am Coll Cardiol*, vol. 23, no 3, p. 733-740.
- Bilan, A., A. Witczak, R. Palusinski, W. Myslinski et J. Hanzlik. 2005. «Circadian rhythm of spectral indices of heart rate variability in healthy subjects». *J Electrocardiol*, vol. 38, no 3, p. 239-243.
- Bonomini, F., S. Tengattini, A. Fabiano, R. Bianchi et R. Rezzani. 2008. «Atherosclerosis and oxidative stress». *Histol Histopathol*, vol. 23, no 3, p. 381-390.
- Bredt, D. S. 1999. «Endogenous nitric oxide synthesis: biological functions and pathophysiology». *Free Radic Res*, vol. 31, no 6, p. 577-596.
- Brigelius-Flohe, R., K. D. Aumann, H. Blocker, G. Gross, M. Kiess, K. D. Kloppel, M. Maiorino, A. Roveri, R. Schuckelt, F. Usani et et al. 1994. «Phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase. Genomic DNA, cDNA, and deduced amino acid sequence». *J Biol Chem*, vol. 269, no 10, p. 7342-7348.
- Burney, S., J. L. Caulfield, J. C. Niles, J. S. Wishnok et S. R. Tannenbaum. 1999. «The chemistry of DNA damage from nitric oxide and peroxynitrite». *Mutat Res*, vol. 424, no 1-2, p. 37-49.
- Burt, V. L., P. Whelton, E. J. Roccella, C. Brown, J. A. Cutler, M. Higgins, M. J. Horan et D. Labarthe. 1995. «Prevalence of hypertension in the US adult population. Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1991». *Hypertension*, vol. 25, no 3, p. 305-313.
- Butler, A. R., I. L. Megson et P. G. Wright. 1998. «Diffusion of nitric oxide and scavenging by blood in the vasculature». *Biochim Biophys Acta*, vol. 1425, no 1, p. 168-176.
- Bylund, J., K. L. Brown, C. Movitz, C. Dahlgren et A. Karlsson. 2010. «Intracellular generation of superoxide by the phagocyte NADPH oxidase: How, where, and what for?». *Free Radic Biol Med*.
- Camm, A. J., et L. Fei. 1995. «Risk stratification following myocardial infarction: Heart rate variability and other risk factors». In *Heart rate variability*, Futura, p. 369-392. Armonk.
- Campese, V. M., S. Ye, H. Zhong, V. Yanamadala, Z. Ye et J. Chiu. 2004. «Reactive oxygen species stimulate central and peripheral sympathetic nervous system activity». *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, vol. 287, no 2, p. H695-703.
- Casolo, G., E. Balli, T. Taddei, J. Amuhasi et C. Gori. 1989. «Decreased spontaneous heart rate variability in congestive heart failure». *Am J Cardiol*, vol. 64, no 18, p. 1162-1167.
- Casolo, G. C., P. Stroder, C. Signorini, F. Calzolari, M. Zucchini, E. Balli, A. Sulla et S. Lazzarini. 1992. «Heart rate variability during the acute phase of myocardial infarction». *Circulation*, vol. 85, no 6, p. 2073-2079.

- Castro, L., et B. A. Freeman. 2001. «Reactive oxygen species in human health and disease». *Nutrition*, vol. 17, no 2, p. 161, 163-165.
- Castro, L., M. Rodriguez et R. Radi. 1994. «Aconitase is readily inactivated by peroxynitrite, but not by its precursor, nitric oxide». *J Biol Chem*, vol. 269, no 47, p. 29409-29415.
- Ceriello, A., N. Bortolotti, E. Motz, A. Crescentini, S. Lizzio, A. Russo, L. Tonutti et C. Taboga. 1998. «Meal-generated oxidative stress in type 2 diabetic patients». *Diabetes Care*, vol. 21, no 9, p. 1529-1533.
- Chan, H. M., et G. M. Egeland. 2004. «Fish consumption, mercury exposure, and heart diseases». *Nutr Rev*, vol. 62, no 2, p. 68-72.
- Chelikani, P., I. Fita et P. C. Loewen. 2004. «Diversity of structures and properties among catalases». *Cell Mol Life Sci*, vol. 61, no 2, p. 192-208.
- Chen, K., et A. S. Popel. 2007. «Vascular and perivascular nitric oxide release and transport: biochemical pathways of neuronal nitric oxide synthase (NOS1) and endothelial nitric oxide synthase (NOS3)». *Free Radic Biol Med*, vol. 42, no 6, p. 811-822.
- Chess, G. F., R. M. Tam et F. R. Calaresu. 1975. «Influence of cardiac neural inputs on rhythmic variations of heart period in the cat». *Am J Physiol*, vol. 228, no 3, p. 775-780.
- Chiladakis, J. A., E. Georgiopoulou et D. Alexopoulos. 2004. «Autonomic effects of nebivolol versus atenolol in healthy subjects». *Cardiovasc Drugs Ther*, vol. 18, no 6, p. 469-473.
- Chirinos, J. A., S. S. Franklin, R. R. Townsend et L. Raij. 2009. «Body mass index and hypertension hemodynamic subtypes in the adult US population». *Arch Intern Med*, vol. 169, no 6, p. 580-586.
- Chobanian, A. V., G. L. Bakris, H. R. Black, W. C. Cushman, L. A. Green, J. L. Izzo, Jr., D. W. Jones, B. J. Materson, S. Oparil, J. T. Wright, Jr. et E. J. Roccella. 2003. «Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure». *Hypertension*, vol. 42, no 6, p. 1206-1252.
- Chowdhary, S., et J. N. Townend. 1999. «Role of nitric oxide in the regulation of cardiovascular autonomic control». *Clin Sci (Lond)*, vol. 97, no 1, p. 5-17.
- Conlon, K., et C. Kidd. 1999. «Neuronal nitric oxide facilitates vagal chronotropic and dromotropic actions on the heart». *J Auton Nerv Syst*, vol. 75, no 2-3, p. 136-146.
- Corr, P. B., et R. A. Gillis. 1974. «Role of the vagus nerves in the cardiovascular changes induced by coronary occlusion». *Circulation*, vol. 49, no 1, p. 86-97.
- Cosentino, F., J. E. Barker, M. P. Brand, S. J. Heales, E. R. Werner, J. R. Toppins, N. West, K. M. Channon, M. Volpe et T. F. Luscher. 2001. «Reactive oxygen species mediate endothelium-dependent relaxations in tetrahydrobiopterin-deficient mice». *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, vol. 21, no 4, p. 496-502.
- Coyle, J. T., et P. Puttfarcken. 1993. «Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders». *Science*, vol. 262, no 5134, p. 689-695.

- Danson, E. J., J. K. Choate et D. J. Paterson. 2005. «Cardiac nitric oxide: emerging role for nNOS in regulating physiological function». *Pharmacol Ther*, vol. 106, no 1, p. 57-74.
- Danson, E. J., et D. J. Paterson. 2006. «Reactive oxygen species and autonomic regulation of cardiac excitability». *J Cardiovasc Electrophysiol*, vol. 17 Suppl 1, p. S104-S112.
- Darie, C., L. Jerca, V. Artenie et A. Margina. 1998. «[Glutathione peroxidase, an oxidative stress biomarker, in the menstrual cycle]». *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*, vol. 102, no 3-4, p. 138-144.
- Davydov, D. R. 2001. «Microsomal monooxygenase in apoptosis: another target for cytochrome c signaling?». *Trends Biochem Sci*, vol. 26, no 3, p. 155-160.
- De Ferrari, G. M., M. Mantica, E. Vanoli, S. S. Hull, Jr. et P. J. Schwartz. 1993. «Scopolamine increases vagal tone and vagal reflexes in patients after myocardial infarction». *J Am Coll Cardiol*, vol. 22, no 5, p. 1327-1334.
- Deanfield, J. E., J. P. Halcox et T. J. Rabelink. 2007. «Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance». *Circulation*, vol. 115, no 10, p. 1285-1295.
- Deisseroth, A., et A. L. Dounce. 1970. «Catalase: Physical and chemical properties, mechanism of catalysis, and physiological role». *Physiol Rev*, vol. 50, no 3, p. 319-375.
- Del Rio, D., A. J. Stewart et N. Pellegrini. 2005. «A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress». *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, vol. 15, no 4, p. 316-328.
- Delibas, N., R. Ozcankaya et I. Altuntas. 2002. «Clinical importance of erythrocyte malondialdehyde levels as a marker for cognitive deterioration in patients with dementia of Alzheimer type: a repeated study in 5-year interval». *Clin Biochem*, vol. 35, no 2, p. 137-141.
- Deneke, S. M., et B. L. Fanburg. 1989. «Regulation of cellular glutathione». *Am J Physiol*, vol. 257, no 4 Pt 1, p. L163-173.
- Dierckx, N., G. Horvath, C. van Gils, J. Vertommen, J. van de Vliet, I. De Leeuw et B. Manuel-y-Keenoy. 2003. «Oxidative stress status in patients with diabetes mellitus: relationship to diet». *Eur J Clin Nutr*, vol. 57, no 8, p. 999-1008.
- Dizdaroglu, M., P. Jaruga, M. Birincioglu et H. Rodriguez. 2002. «Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement». *Free Radic Biol Med*, vol. 32, no 11, p. 1102-1115.
- Dorland, W.A. (2007). *Dorland's Illustrated Medical Dictionary*. Philadelphia, Saunders: 2208 p
- Esterbauer, H., R. J. Schaur et H. Zollner. 1991. «Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes». *Free Radic Biol Med*, vol. 11, no 1, p. 81-128.
- Ewing, D. J., J. M. Neilson, C. M. Shapiro, J. A. Stewart et W. Reid. 1991. «Twenty four hour heart rate variability: effects of posture, sleep, and time of day in

- healthy controls and comparison with bedside tests of autonomic function in diabetic patients». *Br Heart J*, vol. 65, no 5, p. 239-244.
- Fallen, E. L., M. V. Kamath, D. N. Ghista et D. Fitchett. 1988. «Spectral analysis of heart rate variability following human heart transplantation: evidence for functional reinnervation». *J Auton Nerv Syst*, vol. 23, no 3, p. 199-206.
- Fei, L., et M. Malik. 1995. «Short- and long-term assessment of heart rate variability for postinfarction risk stratification». In *Heart rate variability*, Futura, p. 341-346. Armonk.
- Fillion, M. 2006. «A preliminary study of mercury exposure and blood pressure in the Brazilian Amazon». *Environmental Health: A Global Access Science Source*, vol. 5, no 29, p. 9.
- Frisard, M., et E. Ravussin. 2006. «Energy metabolism and oxidative stress: impact on the metabolic syndrome and the aging process». *Endocrine*, vol. 29, no 1, p. 27-32.
- Furukawa, S., T. Fujita, M. Shimabukuro, M. Iwaki, Y. Yamada, Y. Nakajima, O. Nakayama, M. Makishima, M. Matsuda et I. Shimomura. 2004. «Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome». *J Clin Invest*, vol. 114, no 12, p. 1752-1761.
- Galetta, F., F. Franzoni, F. R. Femia, N. Roccella, F. Pentimone et G. Santoro. 2005. «Lifelong physical training prevents the age-related impairment of heart rate variability and exercise capacity in elderly people». *J Sports Med Phys Fitness*, vol. 45, no 2, p. 217-221.
- Galle, J., et C. Wanner. 1997. «Oxidative stress and vascular injury--relevant for atherogenesis in uraemic patients?». *Nephrol Dial Transplant*, vol. 12, no 12, p. 2480-2483.
- Gielis, J. F., J. Y. Lin, K. Wingler, P. E. Van Schil, H. H. Schmidt et A. L. Moens. 2010. «Pathogenetic role of eNOS-uncoupling in cardiopulmonary disorders». *Free Radic Biol Med*.
- Gillum, R. F. 1988. «The epidemiology of resting heart rate in a national sample of men and women: associations with hypertension, coronary heart disease, blood pressure, and other cardiovascular risk factors». *Am Heart J*, vol. 116, no 1 Pt 1, p. 163-174.
- Gonenc, A., Y. Ozkan, M. Torun et B. Simsek. 2001. «Plasma malondialdehyde (MDA) levels in breast and lung cancer patients». *J Clin Pharm Ther*, vol. 26, no 2, p. 141-144.
- Gongora, M. C., Z. Qin, K. Laude, H. W. Kim, L. McCann, J. R. Folz, S. Dikalov, T. Fukai et D. G. Harrison. 2006. «Role of extracellular superoxide dismutase in hypertension». *Hypertension*, vol. 48, no 3, p. 473-481.
- Goth, L. 2008. «Catalase deficiency and type 2 diabetes». *Diabetes Care*, vol. 31, no 12, p. e93.
- Greenacre, S. A., et H. Ischiropoulos. 2001. «Tyrosine nitration: localisation, quantification, consequences for protein function and signal transduction». *Free Radic Res*, vol. 34, no 6, p. 541-581.

- Grotto, D., Santa Maria, L.D., Boeira, S., Valentini, J., Charão, M.F., Moro, A.M. 2007. «Rapid quantification of malondialdehyde in plasma by high performance liquid chromatography - visible detection». *Pharm Biomed Anal*, vol. 43, p. 619-624.
- Harrison, R. 2002. «Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now?». *Free Radic Biol Med*, vol. 33, no 6, p. 774-797.
- Heinecke, J. W., W. Li, G. A. Francis et J. A. Goldstein. 1993. «Tyrosyl radical generated by myeloperoxidase catalyzes the oxidative cross-linking of proteins». *J Clin Invest*, vol. 91, no 6, p. 2866-2872.
- Henchcliffe, C., et M. F. Beal. 2008. «Mitochondrial biology and oxidative stress in Parkinson disease pathogenesis». *Nat Clin Pract Neurol*, vol. 4, no 11, p. 600-609.
- Himmelfarb, J., E. McMonagle, S. Freedman, J. Klenzak, E. McMennamin, P. Le, L. B. Pupim, T. A. Ikizler et Picard Group The. 2004. «Oxidative stress is increased in critically ill patients with acute renal failure». *J Am Soc Nephrol*, vol. 15, no 9, p. 2449-2456.
- Hjortskov, N., D. Rissen, A. K. Blangsted, N. Fallentin, U. Lundberg et K. Sogaard. 2004. «The effect of mental stress on heart rate variability and blood pressure during computer work». *Eur J Appl Physiol*, vol. 92, no 1-2, p. 84-89.
- Holan, V., M. Krulova, A. Zajicova et J. Pindjakova. 2002. «Nitric oxide as a regulatory and effector molecule in the immune system». *Mol Immunol*, vol. 38, no 12-13, p. 989-995.
- Hubel, C. A. 1999. «Oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia». *Proc Soc Exp Biol Med*, vol. 222, no 3, p. 222-235.
- Huhmer, A. F., C. R. Nishida, P. R. Ortiz de Montellano et C. Schoneich. 1997. «Inactivation of the inducible nitric oxide synthase by peroxynitrite». *Chem Res Toxicol*, vol. 10, no 5, p. 618-626.
- Huie, R. E., et S. Padmaja. 1993. «The reaction of no with superoxide». *Free Radic Res Commun*, vol. 18, no 4, p. 195-199.
- Ignarro, L. J., J. B. Adams, P. M. Horwitz et K. S. Wood. 1986. «Activation of soluble guanylate cyclase by NO-hemoproteins involves NO-heme exchange. Comparison of heme-containing and heme-deficient enzyme forms». *J Biol Chem*, vol. 261, no 11, p. 4997-5002.
- Ignarro, L. J., J. M. Fukuto, J. M. Griscavage, N. E. Rogers et R. E. Byrns. 1993. «Oxidation of nitric oxide in aqueous solution to nitrite but not nitrate: comparison with enzymatically formed nitric oxide from L-arginine». *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 90, no 17, p. 8103-8107.
- Ivancich, A., H. M. Jouve, B. Sartor et J. Gaillard. 1997. «EPR investigation of compound I in *Proteus mirabilis* and bovine liver catalases: formation of porphyrin and tyrosyl radical intermediates». *Biochemistry*, vol. 36, no 31, p. 9356-9364.
- Izzotti, A., A. Bagnis et S. C. Sacca. 2006. «The role of oxidative stress in glaucoma». *Mutat Res*, vol. 612, no 2, p. 105-114.

- Kinnula, V. L., et J. D. Crapo. 2004. «Superoxide dismutases in malignant cells and human tumors». *Free Radic Biol Med*, vol. 36, no 6, p. 718-744.
- Kleiger, R. E., J. P. Miller, J. T. Bigger, Jr. et A. J. Moss. 1987. «Decreased heart rate variability and its association with increased mortality after acute myocardial infarction». *Am J Cardiol*, vol. 59, no 4, p. 256-262.
- Knott, A. B., et E. Bossy-Wetzel. 2009. «Nitric oxide in health and disease of the nervous system». *Antioxid Redox Signal*, vol. 11, no 3, p. 541-554.
- Kohen, R., et A. Nyska. 2002. «Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification». *Toxicol Pathol*, vol. 30, no 6, p. 620-650.
- Kubo, K., M. Saito, T. Tadokoro et A. Maekawa. 1997. «Changes in susceptibility of tissues to lipid peroxidation after ingestion of various levels of docosahexaenoic acid and vitamin E». *Br J Nutr*, vol. 78, no 4, p. 655-669.
- Kumar, D. M., et N. Agarwal. 2007. «Oxidative stress in glaucoma: a burden of evidence». *J Glaucoma*, vol. 16, no 3, p. 334-343.
- La Rovere, M. T., J. T. Bigger, F.I. Marcus, A. Mortara et P. J. Schwartz. 1998. «Baroreflex sensitivity and heart-rate variability in prediction of tonal cardiac mortality after acute myocardial infarction.». p. 478-484: *Lancet*.
- Lassegue, B., et K. K. Griendling. 2004. «Reactive oxygen species in hypertension; An update». *Am J Hypertens*, vol. 17, no 9, p. 852-860.
- Leeuwenburgh, C., M. M. Hardy, S. L. Hazen, P. Wagner, S. Oh-ishi, U. P. Steinbrecher et J. W. Heinecke. 1997. «Reactive nitrogen intermediates promote low density lipoprotein oxidation in human atherosclerotic intima». *J Biol Chem*, vol. 272, no 3, p. 1433-1436.
- Levy, M. N. 1971. «Sympathetic-parasympathetic interactions in the heart». *Circ Res*, vol. 29, no 5, p. 437-445.
- Levy, M.N., et P.J. Schwartz. 1994. *Vagal control of the heart: Experimental basis and clinical applications*. Armonk: Future p.
- Lim, S., H. U. Chung et D. Paek. 2010. «Low dose mercury and heart rate variability among community residents nearby to an industrial complex in Korea». *Neurotoxicology*, vol. 31, no 1, p. 10-16.
- Lin, H. C., F. J. Wan, K. K. Cheng et C. J. Tseng. 1999. «Nitric oxide signaling pathway mediates the L-arginine-induced cardiovascular effects in the nucleus tractus solitarii of rats». *Life Sci*, vol. 65, no 23, p. 2439-2451.
- Lindley, T. E., M. F. Doobay, R. V. Sharma et R. L. Davisson. 2004. «Superoxide is involved in the central nervous system activation and sympathoexcitation of myocardial infarction-induced heart failure». *Circ Res*, vol. 94, no 3, p. 402-409.
- Liochev, S. I., et I. Fridovich. 2002. «The Haber-Weiss cycle -- 70 years later: an alternative view». *Redox Rep*, vol. 7, no 1, p. 55-57; author reply 59-60.
- Liu, X., M. J. Miller, M. S. Joshi, D. D. Thomas et J. R. Lancaster, Jr. 1998. «Accelerated reaction of nitric oxide with O<sub>2</sub> within the hydrophobic interior

- of biological membranes». *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 95, no 5, p. 2175-2179.
- Lombardi, F., G. Sandrone, A. Mortara, M. T. La Rovere, E. Colombo, S. Guzzetti et A. Malliani. 1992. «Circadian variation of spectral indices of heart rate variability after myocardial infarction». *Am Heart J*, vol. 123, no 6, p. 1521-1529.
- Lopez, A. D., et C. C. Murray. 1998. «The global burden of disease, 1990-2020». *Nat Med*, vol. 4, no 11, p. 1241-1243.
- Lown, B., et R. L. Verrier. 1976. «Neural activity and ventricular fibrillation». *N Engl J Med*, vol. 294, no 21, p. 1165-1170.
- Lubos, E., J. Loscalzo et D. E. Handy. 2010. «Glutathione peroxidase-1 in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities». *Antioxid Redox Signal*.
- Luck, H. 1954. «[Quantitative determination of catalase activity of biological material.]». *Enzymologia*, vol. 17, no 1, p. 31-40.
- Malik, M., et A. J. Camm. 1990. «Significance of long term components of heart rate variability for the further prognosis after acute myocardial infarction». *Cardiovasc Res*, vol. 24, no 10, p. 793-803.
- . 1993. «Components of heart rate variability--what they really mean and what we really measure». *Am J Cardiol*, vol. 72, no 11, p. 821-822.
- Malik, M., T. Farrell, T. Cripps et A. J. Camm. 1989. «Heart rate variability in relation to prognosis after myocardial infarction: selection of optimal processing techniques». *Eur Heart J*, vol. 10, no 12, p. 1060-1074.
- Malliani, A. 1982. «Cardiovascular sympathetic afferent fibers». *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, vol. 94, p. 11-74.
- Malliani, A., F. Lombardi et M. Pagani. 1994. «Power spectrum analysis of heart rate variability: a tool to explore neural regulatory mechanisms». *Br Heart J*, vol. 71, no 1, p. 1-2.
- Malliani, A., M. Pagani, F. Lombardi et S. Cerutti. 1991. «Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain». *Circulation*, vol. 84, no 2, p. 482-492.
- Manju, V., J. Kalaivani Sailaja et N. Nalini. 2002. «Circulating lipid peroxidation and antioxidant status in cervical cancer patients: a case-control study». *Clin Biochem*, vol. 35, no 8, p. 621-625.
- Maritim, A. C., R. A. Sanders et J. B. Watkins, 3rd. 2003. «Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review». *J Biochem Mol Toxicol*, vol. 17, no 1, p. 24-38.
- Markesbery, W. R. 1997. «Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease». *Free Radic Biol Med*, vol. 23, no 1, p. 134-147.
- Marnett, L. J. 1999. «Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde». *Mutat Res*, vol. 424, no 1-2, p. 83-95.
- McCord, J. M. 2000. «The evolution of free radicals and oxidative stress». *Am J Med*, vol. 108, no 8, p. 652-659.

- McCord, J. M., et I. Fridovich. 1969. «Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemoglobin (hemocuprein)». *J Biol Chem*, vol. 244, no 22, p. 6049-6055.
- Meister, A., et M. E. Anderson. 1983. «Glutathione». *Annu Rev Biochem*, vol. 52, p. 711-760.
- Mendoza-Nunez, V. M., A. Beristain-Perez, S. P. Perez-Vera et M. A. Altamirano-Lozano. 2010. «Age-related sex differences in glutathione peroxidase and oxidative DNA damage in a healthy Mexican population». *J Womens Health (Larchmt)*, vol. 19, no 5, p. 919-926.
- Molfino, A., A. Fiorentini, L. Tubani, M. Martuscelli, F. Rossi Fanelli et A. Laviano. 2009. «Body mass index is related to autonomic nervous system activity as measured by heart rate variability». *Eur J Clin Nutr*, vol. 63, no 10, p. 1263-1265.
- Mollnau, H., M. Oelze, M. August, M. Wendt, A. Daiber, E. Schulz, S. Baldus, A. L. Kleschyov, A. Materne, P. Wenzel, U. Hink, G. Nickenig, I. Fleming et T. Munzel. 2005. «Mechanisms of increased vascular superoxide production in an experimental model of idiopathic dilated cardiomyopathy». *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, vol. 25, no 12, p. 2554-2559.
- Montano, N., T. G. Ruscone, A. Porta, F. Lombardi, M. Pagani et A. Malliani. 1994. «Power spectrum analysis of heart rate variability to assess the changes in sympathovagal balance during graded orthostatic tilt». *Circulation*, vol. 90, no 4, p. 1826-1831.
- Moolchan, E. T., D. L. Hudson, J. R. Schroeder et S. S. Sehnert. 2004. «Heart rate and blood pressure responses to tobacco smoking among African-American adolescents». *J Natl Med Assoc*, vol. 96, no 6, p. 767-771.
- Muller, F. L., M. S. Lustgarten, Y. Jang, A. Richardson et H. Van Remmen. 2007. «Trends in oxidative aging theories». *Free Radic Biol Med*, vol. 43, no 4, p. 477-503.
- Niedernhofer, L. J., J. S. Daniels, C. A. Rouzer, R. E. Greene et L. J. Marnett. 2003. «Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells». *J Biol Chem*, vol. 278, no 33, p. 31426-31433.
- Nolan, J., A. D. Flapan, S. Capewell, T. M. MacDonald, J. M. Neilson et D. J. Ewing. 1992. «Decreased cardiac parasympathetic activity in chronic heart failure and its relation to left ventricular function». *Br Heart J*, vol. 67, no 6, p. 482-485.
- Odemuyiwa, O., M. Malik, T. Farrell, Y. Bashir, J. Poloniecki et J. Camm. 1991. «Comparison of the predictive characteristics of heart rate variability index and left ventricular ejection fraction for all-cause mortality, arrhythmic events and sudden death after acute myocardial infarction». *Am J Cardiol*, vol. 68, no 5, p. 434-439.
- OMS. 1995. «Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee». *World Health Organ Tech Rep Ser*, vol. 854, p. 1-452.



- (2004). Rapport sur la santé dans le monde, 2004: Changer le cours de l'histoire: 106 p
- Pacher, P., J. S. Beckman et L. Liaudet. 2007. «Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease». *Physiol Rev*, vol. 87, no 1, p. 315-424.
- Pagani, M., G. Malfatto, S. Pierini, R. Casati, A. M. Masu, M. Poli, S. Guzzetti, F. Lombardi, S. Cerutti et A. Malliani. 1988. «Spectral analysis of heart rate variability in the assessment of autonomic diabetic neuropathy». *J Auton Nerv Syst*, vol. 23, no 2, p. 143-153.
- Paglia, D.E. Valentine, W.N. 1967. «Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase». *J. Lab. Clin. Med.*, vol. 70, p. 158-169.
- Paolisso, G., et D. Giugliano. 1996. «Oxidative stress and insulin action: is there a relationship?». *Diabetologia*, vol. 39, no 3, p. 357-363.
- Passos, C. J., D. S. Da Silva, M. Lemire, M. Fillion, J. R. Guimaraes, M. Lucotte et D. Mergler. 2008. «Daily mercury intake in fish-eating populations in the Brazilian Amazon». *J Expo Sci Environ Epidemiol*, vol. 18, no 1, p. 76-87.
- Passos, C. J., et D. Mergler. 2008. «Human mercury exposure and adverse health effects in the Amazon: a review». *Cad Saude Publica*, vol. 24 Suppl 4, p. s503-520.
- Patel, R. P., J. McAndrew, H. Sellak, C. R. White, H. Jo, B. A. Freeman et V. M. Darley-Usmar. 1999. «Biological aspects of reactive nitrogen species». *Biochim Biophys Acta*, vol. 1411, no 2-3, p. 385-400.
- Paton, J. F., S. Kasparov et D. J. Paterson. 2002. «Nitric oxide and autonomic control of heart rate: a question of specificity». *Trends Neurosci*, vol. 25, no 12, p. 626-631.
- Pavithran, P., H. Nandeesh, V. Sathiyapriya, Z. Bobby et T. Madanmohan. 2008. «Short-term heart variability and oxidative stress in newly diagnosed essential hypertension». *Clin Exp Hypertens*, vol. 30, no 7, p. 486-496.
- Piech, A., C. Dessy, X. Havaux, O. Feron et J. L. Balligand. 2003. «Differential regulation of nitric oxide synthases and their allosteric regulators in heart and vessels of hypertensive rats». *Cardiovasc Res*, vol. 57, no 2, p. 456-467.
- Polidori, M. C., K. Savino, G. Alunni, M. Freddio, U. Senin, H. Sies, W. Stahl et P. Mecocci. 2002. «Plasma lipophilic antioxidants and malondialdehyde in congestive heart failure patients: relationship to disease severity». *Free Radic Biol Med*, vol. 32, no 2, p. 148-152.
- Pope, C. A., 3rd, D. J. Eatough, D. R. Gold, Y. Pang, K. R. Nielsen, P. Nath, R. L. Verrier et R. E. Kanner. 2001. «Acute exposure to environmental tobacco smoke and heart rate variability». *Environ Health Perspect*, vol. 109, no 7, p. 711-716.
- Quintana, M., N. Storck, L. E. Lindblad, K. Lindvall et M. Ericson. 1997. «Heart rate variability as a means of assessing prognosis after acute myocardial infarction. A 3-year follow-up study». *Eur Heart J*, vol. 18, no 5, p. 789-797.

- Radi, R., J. S. Beckman, K. M. Bush et B. A. Freeman. 1991. «Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide». *Arch Biochem Biophys*, vol. 288, no 2, p. 481-487.
- Radomski, M. W., R. M. Palmer et S. Moncada. 1987. «The anti-aggregating properties of vascular endothelium: interactions between prostacyclin and nitric oxide». *Br J Pharmacol*, vol. 92, no 3, p. 639-646.
- Reas, D. L., J. F. Nygard, E. Svensson, T. Sorensen et I. Sandanger. 2007. «Changes in body mass index by age, gender, and socio-economic status among a cohort of Norwegian men and women (1990-2001)». *BMC Public Health*, vol. 7, p. 269.
- Roberts, J.M., R.N. Taylor, T.J. Musci, G.M. Rodgers, C.A. Hubel et M.K. McLaughlin. 1990. «Preeclampsia: An endothelial cell disorder». *Am J Obstet Gynecol*, vol. 163, p. 1365-1366.
- Rodrigo, R. 2009. *Oxidative Stress and Antioxidants: Their Role in Human Disease*. New York: Nova Science, 358 p.
- Rodrigo, R., et G. Rivera. 2002. «Renal damage mediated by oxidative stress: a hypothesis of protective effects of red wine». *Free Radic Biol Med*, vol. 33, no 3, p. 409-422.
- Rosenfeld, J., M. R. Rosen et B. F. Hoffman. 1978. «Pharmacologic and behavioral effects on arrhythmias that immediately follow abrupt coronary occlusion: a canine model of sudden coronary death». *Am J Cardiol*, vol. 41, no 6, p. 1075-1082.
- Sandrone, G., A. Mortara, D. Torzillo, M. T. La Rovere, A. Malliani et F. Lombardi. 1994. «Effects of beta blockers (atenolol or metoprolol) on heart rate variability after acute myocardial infarction». *Am J Cardiol*, vol. 74, no 4, p. 340-345.
- Saul, J. P., P. Albrecht, R. D. Berger et R. J. Cohen. 1988. «Analysis of long term heart rate variability: methods, 1/f scaling and implications». *Comput Cardiol*, vol. 14, p. 419-422.
- Sayers, B. M. 1973. «Analysis of heart rate variability». *Ergonomics*, vol. 16, no 1, p. 17-32.
- Schmidt, H. H., H. Hofmann, U. Schindler, Z. S. Shutenko, D. D. Cunningham et M. Feelisch. 1996. «No NO from NO synthase». *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 93, no 25, p. 14492-14497.
- Schultz, H. D. 2009. «Nitric oxide regulation of autonomic function in heart failure». *Curr Heart Fail Rep*, vol. 6, no 2, p. 71-80.
- Schwartz, P. J. 1981. «The sympathetic nervous system and sudden cardiac death». *G Ital Cardiol*, vol. 11, no 9, p. 1191-1197.
- Sears, C. E., J. K. Choate et D. J. Paterson. 1999. «NO-cGMP pathway accentuates the decrease in heart rate caused by cardiac vagal nerve stimulation». *J Appl Physiol*, vol. 86, no 2, p. 510-516.

- Seifried, H. E., D. E. Anderson, E. I. Fisher et J. A. Milner. 2007. «A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species». *J Nutr Biochem*, vol. 18, no 9, p. 567-579.
- Seki, M., R. Inoue, T. Ohkubo, M. Kikuya, A. Hara, H. Metoki, T. Hirose, M. Tsubota-Utsugi, K. Asayama, A. Kanno, T. Obara, H. Hoshi, K. Totsune, H. Satoh et Y. Imai. 2010. «Association of environmental tobacco smoke exposure with elevated home blood pressure in Japanese women: the Ohasama study». *J Hypertens*, vol. 28, no 9, p. 1814-1820.
- Seong, H. M., J. S. Lee, T. M. Shin, W. S. Kim et Y. R. Yoon. 2004. «The analysis of mental stress using time-frequency distribution of heart rate variability signal». *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*, vol. 1, p. 283-285.
- Sharma, P., B. H. Paudel, P. N. Singh et P. Limbu. 2009. «Heart rate variability: Response to graded head up tilt in healthy men». *Kathmandu Univ Med J (KUMJ)*, vol. 7, no 27, p. 252-257.
- Sies, H. 1997. «Oxidative stress: oxidants and antioxidants». *Exp Physiol*, vol. 82, no 2, p. 291-295.
- Sinnreich, R., J. D. Kark, Y. Friedlander, D. Sapoznikov et M. H. Luria. 1998. «Five minute recordings of heart rate variability for population studies: repeatability and age-sex characteristics». *Heart*, vol. 80, no 2, p. 156-162.
- Slatter, D. A., C. H. Bolton et A. J. Bailey. 2000. «The importance of lipid-derived malondialdehyde in diabetes mellitus». *Diabetologia*, vol. 43, no 5, p. 550-557.
- Smith, K. J., R. Kapoor et P. A. Felts. 1999. «Demyelination: the role of reactive oxygen and nitrogen species». *Brain Pathol*, vol. 9, no 1, p. 69-92.
- Sohal, R. S., et R. Weindruch. 1996. «Oxidative stress, caloric restriction, and aging». *Science*, vol. 273, no 5271, p. 59-63.
- Spiteller, G. 2003. «Are lipid peroxidation processes induced by changes in the cell wall structure and how are these processes connected with diseases?». *Med Hypotheses*, vol. 60, no 1, p. 69-83.
- Stohs, S. J., et D. Bagchi. 1995. «Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions». *Free Radic Biol Med*, vol. 18, no 2, p. 321-336.
- Stone, N. J. 1996. «Fish consumption, fish oil, lipids, and coronary heart disease». *Circulation*, vol. 94, no 9, p. 2337-2340.
- Stuehr, D. J. 1999. «Mammalian nitric oxide synthases». *Biochim Biophys Acta*, vol. 1411, no 2-3, p. 217-230.
- Sztajzel, J. 2004. «Heart rate variability: a noninvasive electrocardiographic method to measure the autonomic nervous system». *Swiss Med Wkly*, vol. 134, no 35-36, p. 514-522.
- Tamer, L., N. Sucu, G. Polat, B. Ercan, B. Aytacoglu, G. Yucebilgic, A. Unlu, M. Dikmengil et U. Atik. 2002. «Decreased serum total antioxidant status and erythrocyte-reduced glutathione levels are associated with increased serum malondialdehyde in atherosclerotic patients». *Arch Med Res*, vol. 33, no 3, p. 257-260.

- Terathongkum, S., et R. H. Pickler. 2004. «Relationships among heart rate variability, hypertension, and relaxation techniques». *J Vasc Nurs*, vol. 22, no 3, p. 78-82; quiz 83-74.
- TFESC. 1996. «Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology». *Eur Heart J*, vol. 17, no 3, p. 354-381.
- Toprakci, M., D. Ozmen, I. Mutaf, N. Turgan, Z. Parildar, S. Habif, I. Guner et O. Bayindir. 2000. «Age-associated changes in nitric oxide metabolites nitrite and nitrate». *Int J Clin Lab Res*, vol. 30, no 2, p. 83-85.
- Tripathi, K. K. 2011. «Very low frequency oscillations in the power spectra of heart rate variability during dry supine immersion and exposure to non-hypoxic hypobaria». *Physiol Meas*, vol. 32, no 6, p. 717-729.
- Valko, M., C. J. Rhodes, J. Moncol, M. Izakovic et M. Mazur. 2006. «Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer». *Chem Biol Interact*, vol. 160, no 1, p. 1-40.
- Vanderlei, L. C., R. A. Silva, C. M. Pastre, F. M. Azevedo et M. F. Godoy. 2008. «Comparison of the Polar S810i monitor and the ECG for the analysis of heart rate variability in the time and frequency domains». *Braz J Med Biol Res*.
- VanderVeen, L. A., M. F. Hashim, Y. Shyr et L. J. Marnett. 2003. «Induction of frameshift and base pair substitution mutations by the major DNA adduct of the endogenous carcinogen malondialdehyde». *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 100, no 24, p. 14247-14252.
- Vanoli, E., G. M. De Ferrari, M. Stramba-Badiale, S. S. Hull, Jr., R. D. Foreman et P. J. Schwartz. 1991. «Vagal stimulation and prevention of sudden death in conscious dogs with a healed myocardial infarction». *Circ Res*, vol. 68, no 5, p. 1471-1481.
- Vatner, D. E., N. Sato, J. B. Galper et S. F. Vatner. 1996. «Physiological and biochemical evidence for coordinate increases in muscarinic receptors and Gi during pacing-induced heart failure». *Circulation*, vol. 94, no 1, p. 102-107.
- Vertuani, S., A. Angusti et S. Manfredini. 2004. «The antioxidants and pro-antioxidants network: an overview». *Curr Pharm Des*, vol. 10, no 14, p. 1677-1694.
- Videla, L. A., R. Rodrigo, M. Orellana, V. Fernandez, G. Tapia, L. Quinones, N. Varela, J. Contreras, R. Lazarte, A. Csendes, J. Rojas, F. Maluenda, P. Burdiles, J. C. Diaz, G. Smok, L. Thielemann et J. Poniachik. 2004. «Oxidative stress-related parameters in the liver of non-alcoholic fatty liver disease patients». *Clin Sci (Lond)*, vol. 106, no 3, p. 261-268.
- Virag, L., E. Szabo, P. Gergely et C. Szabo. 2003. «Peroxynitrite-induced cytotoxicity: mechanism and opportunities for intervention». *Toxicol Lett*, vol. 140-141, p. 113-124.

- Vives-Bauza, C., A. Starkov et E. Garcia-Arumi. 2007. «Measurements of the antioxidant enzyme activities of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase». *Methods Cell Biol*, vol. 80, p. 379-393.
- Vybiral, T., D. H. Glaeser, G. Morris, K. R. Hess, K. Yang, M. Francis et C. M. Pratt. 1993. «Effects of low dose transdermal scopolamine on heart rate variability in acute myocardial infarction». *J Am Coll Cardiol*, vol. 22, no 5, p. 1320-1326.
- Webster, N. R., et J. F. Nunn. 1988. «Molecular structure of free radicals and their importance in biological reactions». *Br J Anaesth*, vol. 60, no 1, p. 98-108.
- Wei, W., Q. Liu, Y. Tan, L. Liu, X. Li et L. Cai. 2009. «Oxidative stress, diabetes, and diabetic complications». *Hemoglobin*, vol. 33, no 5, p. 370-377.
- Wilson, M. D., J. D. McGlothlin, F. S. Rosenthal, D. R. Black, N. J. Zimmerman et C. D. Bridges. 2010. «Ergonomics. The effect of occupational exposure to environmental tobacco smoke on the heart rate variability of bar and restaurant workers». *J Occup Environ Hyg*, vol. 7, no 7, p. D44-49.
- Wyse, D. G., J. Morganroth, R. Ledingham, P. Denes, A. Hallstrom, L. B. Mitchell, A. E. Epstein, R. L. Woosley et R. Capone. 1994. «New insights into the definition and meaning of proarrhythmia during initiation of antiarrhythmic drug therapy from the Cardiac Arrhythmia Suppression Trial and its pilot study. The CAST and CAPS Investigators». *J Am Coll Cardiol*, vol. 23, no 5, p. 1130-1140.
- Yoneyama, Y., R. Sawa, S. Suzuki, D. Doi, K. Yoneyama, Y. Otsubo et T. Araki. 2002. «Relationship between plasma malondialdehyde levels and adenosine deaminase activities in preeclampsia». *Clin Chim Acta*, vol. 322, no 1-2, p. 169-173.
- Yusuf, S., S. Hawken, S. Ounpuu, T. Dans, A. Avezum, F. Lanas, M. McQueen, A. Budaj, P. Pais, J. Varigos et L. Lisheng. 2004. «Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study». *Lancet*, vol. 364, no 9438, p. 937-952.
- Zawadzki, M., P. Gac, R. Poreba, E. Murawska-Cialowicz, T. Wielkoszynski, L. Januszewska, K. Pawlas et R. Andrzejak. 2008. «Levels of hemoglobin and lipid peroxidation metabolites in blood, catalase activity in erythrocytes and peak expiratory flow rate in subjects with passive exposure to tobacco smoke». *Pol Arch Med Wewn*, vol. 118, no 12, p. 705-712.
- Zhang, J. 2007. «Effect of age and sex on heart rate variability in healthy subjects». *J Manipulative Physiol Ther*, vol. 30, no 5, p. 374-379.
- Ziolo, M. T., L. S. Maier, V. Piacentino, 3rd, J. Bossuyt, S. R. Houser et D. M. Bers. 2004. «Myocyte nitric oxide synthase 2 contributes to blunted beta-adrenergic response in failing human hearts by decreasing Ca<sup>2+</sup> transients». *Circulation*, vol. 109, no 15, p. 1886-1891.
- Zou, M. H., R. Cohen et V. Ullrich. 2004. «Peroxyntirite and vascular endothelial dysfunction in diabetes mellitus». *Endothelium*, vol. 11, no 2, p. 89-97.