



## **THESE DE DOCTORAT EN**

SCIENCES ET TECHNIQUES DES ACTIVITES PHYSIQUE ET SPORTIVE (STAPS)

*En vue de l'obtention du grade de*

**Docteur de l'Université des Antilles**

*Présentée par : Karen REMINY*

---

### **Spécificité de la fonction microvasculaire chez les porteurs du trait drépanocytaire.**

### **Effets de l'activité physique en environnement chaud**

---

*Soutenue publiquement le 15 Décembre 2021 devant le jury :*

Mr Aurélien PICHON	PU, Université de Poitiers	<b>Rapporteur</b>
Mr Matthieu ROUSTIT	PU-PH, INSERM, Université Grenoble Alpes	<b>Rapporteur</b>
Mr Philippes CONNES	PU, Université de Lyon	<b>Examineur</b>
Mme Agnès VINET-JULLIAN	PU, Université d'Avignon	<b>Examineur</b>
Mme Maryse ETIENNE-JULAN	Médecin CHU Pointe à Pitre	<b>Examineur</b>
Mme Sophie ANTOINE-JONVILLE	MCF-HDR, Université d'Avignon	<b>Directeur</b>
Mr Olivier HUE	PU, Université des Antilles	<b>Co-directeur</b>

**Directeurs de thèse :** Sophie ANTOINE-JONVILLE et Olivier HUE

**Ecole doctorale :** école doctorale pluridisciplinaire de l'université des Antilles 589

**Laboratoire d'accueil :** ACTES, Adaptation au Climat Tropical, Exercice et Santé EA 3596.



# REMERCIEMENTS

*Je remercie sincèrement tous ceux et celles qui ont participé de près ou de loin à ce beau projet de thèse ! ce manuscrit a vu le jour grâce à vous.... MERCI !*

*Pour préciser mon propos, je vais tout d'abord remercier l'ensemble des membres du jury d'avoir accepté de participer à ce jury, de m'accorder leur précieux temps pour évaluer ce travail de thèse.*

*Merci tout particulièrement à Mr. Roustit et Mr. Pichon mes deux rapporteurs, vos remarques pertinentes ne feront qu'améliorer ce manuscrit.*

*Je remercie également le Pr. Olivier Hue, de m'avoir permis d'évoluer au sein de son laboratoire, et son encadrement durant ces années de thèse.*

*Je remercie, le Pr. Philippe Connes pour ces encouragements par mails interposés*

*J'adresse quelques mots à ma directrice de thèse, le Dr. Sophie Antoine-Jonville, merci pour ta confiance, ta patience, tes connaissances, ta pédagogie et ta disponibilité à tout moment. Je te remercie de m'avoir fait confiance sur ce projet de thèse ! C'est un chapitre qui se clôture mais j'espère continuer à collaborer avec toi à l'avenir !*

*Je tiens également à remercier le Dr. Romana, le Dr. Hardy-Dessources et le Dr. Ngo Schok pour leur implication et leur expertise qui m'ont été d'une grande aide, merci pour votre gentillesse et votre patience*

*Je remercie l'ensemble des participants des études, sans vous ce travail n'aurait pas vu le jour !*

*Merci à l'équipe de choc : nos infirmières et nos médecins, avec qui j'ai pu échanger tout au long des expérimentations.*



*Je remercie également l'ensemble du laboratoire ACTES et l'équipe pédagogique de l'UFR STAPS. Je pense à ceux qui ne sont plus au laboratoire mais qui m'ont beaucoup appris ! Je pense également à Maryse qui a toujours fait son possible pour rendre la vie plus facile durant ces dernières années, d'un point de vue administratif.*

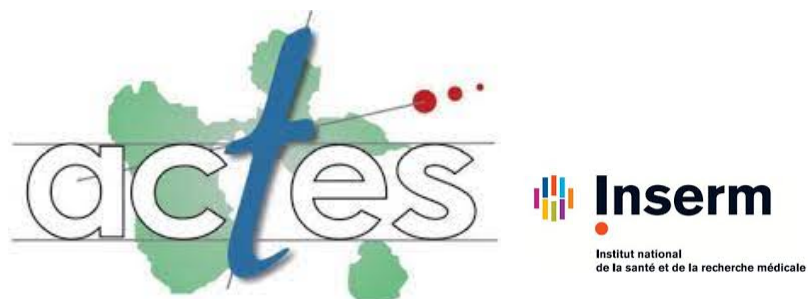
*J'adresse quelques mots à mes compagnons Mayou et Shelly qui ont été comme ma famille au laboratoire et en dehors. Mayou et Shelly merci pour tous vos conseils, vos encouragements, vos corrections, merci pour les fous rires, les séances de sport. Ces années de thèse ont été fort agréables à vos côtés.*

*Note importante : **Ne jamais oublier les règles** =)*

*Un grand grand merci à mon entourage d'exception ! Pounie, Mr. Adèle, Ganou, Cla, Nancy, merci pour **toutes** vos relectures, vos encouragements à tout moment, votre confiance !! merci de m'avoir accompagné dans chacune de mes décisions, d'avoir toujours répondu présent jusqu'à la dernière seconde....*

***A ma famille, maman et Dim merci pour votre soutien sans faille...***

Ces travaux de thèse ont été réalisés au sein du laboratoire Adaptation au Climat Tropical, Exercice et Santé (ACTES EA3596) en collaboration avec l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (Inserm U1134)



Un financement a été attribué pour réaliser ces travaux de thèse par le Fond de Développement Régional Européen, Financements publics nationaux et la Région Guadeloupe.



# SOMMAIRE

REMERCIEMENTS .....	3
INDEX DES FIGURES .....	9
INDEX DES TABLEAUX.....	11
ABREVIATIONS .....	12
INTRODUCTION .....	14
REVUE DE LITTERATURE.....	17
<b>CHAPITRE 1. PHYSIOLOGIE DU SYSTEME CIRCULATOIRE .....</b>	<b>18</b>
<b>A.STRUCTURES VASCULAIRES .....</b>	<b>19</b>
1. Architecture pariétale .....	19
2. Les différentes structures vasculaires .....	21
3. Particularités de la microcirculation cutanée.....	24
<b>B.LE SANG ET SES COMPOSANTS.....</b>	<b>26</b>
<b>C.REGULATION VASCULAIRE ET MODALITES D'ECOLEMENT .....</b>	<b>30</b>
1. Grands principes hémodynamiques .....	30
2. Régulation de la vasomotricité.....	40
3. Régulation vasculaire et défis thermique : microcirculation cutanée.....	47
<b>D.EXPLORATION STRUCTURELLE ET FONCTIONNELLE VASCULAIRE .....</b>	<b>50</b>
1. Techniques non invasives d'exploration de la fonction microvasculaire .....	51
2. Techniques d'évaluation de vasoréactivité .....	53
<b>E.DYSFONCTIONNEMENT ENDOTHELIAL .....</b>	<b>58</b>
Stress oxydatif.....	59
<b>CHAPITRE 2. DREPANOCYTOSE ET TRAIT DREPANOCYTAIRE .....</b>	<b>63</b>
<b>A.ANOMALIES DE L'HEMOGLOBINE.....</b>	<b>63</b>
<b>B.LA DREPANOCYTOSE.....</b>	<b>64</b>
1. Transmission .....	67
2. Epidémiologie.....	67
3. Dépistage .....	71
4. Physiopathologie de la drépanocytose.....	72
5. La drépanocytose : maladie aux complications multiples .....	74
6. Hémyolyse.....	76
7. Stress oxydatif.....	76
8. Adhésion/inflammation .....	78
<b>C.TRAIT DREPANOCYTAIRE.....</b>	<b>80</b>
1. Généralités .....	80
2. Profil sanguin .....	81
3. Complications cliniques et TD.....	82
<b>CHAPITRE 3. EXERCICE ET TRAIT DREPANOCYTAIRE .....</b>	<b>85</b>
<b>A.COMPLICATIONS A L'EXERCICE ET TD .....</b>	<b>87</b>
1. Premières preuves : rapport de cas (annexe 1) .....	87
2. Tentatives de compréhension .....	87
3. Evaluation des aptitudes physiques chez les PTDs .....	91
4. Physiopathologie des complications à l'exercice chez PTDs.....	93
5. Entraînement et TD .....	106
<b>B.EXERCICE EN ENVIRONNEMENT CHAUD .....</b>	<b>107</b>
1. Mécanismes physiques d'échanges de chaleur .....	108
2. Facteurs limitants de la performance et du risque pour la santé en environnement chaud ....	110
3. Impact de la pratique en environnement chaud chez les PTDs .....	115
4. Stratégies de lutte contre les effets potentiellement délétères de la pratique en environnement chaud.....	116

<b>CONTRIBUTION PERSONNELLE</b> .....	<b>119</b>
<b>OBJECTIFS DU TRAVAIL DE THÈSE</b> .....	<b>120</b>
<i>Objectif principal</i> .....	122
<i>Objectifs secondaires</i> .....	123
<b>MATERIELS &amp; METHODES</b> .....	<b>124</b>
<b>A. POPULATIONS ET RECRUTEMENT</b> .....	<b>125</b>
1. <i>Étude TDEx</i> .....	125
2. <i>Étude ancillaire</i> .....	126
<b>B. DEROULEMENT DES EXPERIMENTATIONS</b> .....	<b>127</b>
1. <i>Déroulement du protocole TDEx</i> .....	127
3. <i>Déroulement étude ancillaire</i> .....	130
4. <i>Recommandations</i> .....	130
5. <i>Conditions environnementales</i> .....	131
5. <i>Exploration in vivo de la fonction microvasculaire cutanée</i> .....	132
6. <i>Exercice (exclusivement TDEx)</i> .....	136
7. <i>Analyses sanguines</i> .....	139
<b>C. ANALYSES STATISTIQUES</b> .....	<b>150</b>
<b>RESULTATS</b> .....	<b>153</b>
<b>A.ÉTUDE ANCILLAIRE</b> .....	<b>154</b>
<b>B.ÉTUDE TDEx</b> .....	<b>160</b>
1. <i>Caractéristiques générales des participants</i> .....	160
2. <i>Performances, capacités cardiorespiratoires, température tympanique et cutanée</i> .....	161
3. <i>Caractéristiques biochimiques</i> .....	164
4. <i>Caractérisation de la fonction microvasculaire</i> .....	168
5. <i>Déterminants de la fonction microvasculaire</i> .....	181
6. <i>Régulation du métabolisme glucidique</i> .....	191
<b>DISCUSSION</b> .....	<b>194</b>
<b>A.ADAPTATIONS A L'EXERCICE DE HAUTE INTENSITE</b> .....	<b>198</b>
<b>B.CARACTERISATION DE LA FONCTION MICROVASCULAIRE</b> .....	<b>203</b>
<b>C.REGULATION DU METABOLISME GLUCIDIQUE ET CES EFFETS SUR LA FONCTION MICROVASCULAIRE</b> .....	<b>212</b>
<b>CONCLUSION &amp; PERSPECTIVES</b> .....	<b>220</b>
<b>PUBLICATIONS &amp; COMMUNICATIONS</b> .....	<b>228</b>
<b>ANNEXES</b> .....	<b>263</b>
1. <i>Rapports de cas</i> .....	264
2. <i>Résultats des études épidémiologiques : Prévalence des PTDs militaires ou civiles sportifs et incidence des complications multiples (Rhabdomyolyse, EHI)</i> .....	266
3. <i>Complications non-traumatiques liées à l'exercice</i> .....	268
4. <i>Résumé des études cliniques : adaptations à l'exercice chez les PTDs</i> .....	269
5. <i>Recommandations de la pratique sportive en fonction des conditions environnementales (Périard &amp; Racinais, 2019)</i> .....	271
6. <i>Effet de la prise alimentaire sur la fonction microvasculaire</i> .....	272

# INDEX DES FIGURES

<b>Figure 1</b> Architecture des différents vaisseaux.....	20
<b>Figure 2</b> Capillaires sanguins.....	24
<b>Figure 3</b> Structure microvasculaire cutanée (A) boucles capillaires, .....	25
<b>Figure 4</b> Composition cellulaire du sang humain, schéma modifié (Sherwood, 2015).....	26
<b>Figure 5</b> Structure de la molécule d'hémoglobine adulte normale (Sherwood, 2015) .....	28
<b>Figure 6</b> Evolution de l'hémoglobine en fonction de l'âge hors des conditions pathologiques (Sankaran & Orkin, 2013) .....	29
<b>Figure 7</b> Déterminants de la pression artérielle moyenne (Sherwood, 2015) .....	31
<b>Figure 8</b> Répartition systémique du débit cardiaque au repos (A) versus à l'exercice (B).....	33
<b>Figure 9</b> Ecoulement de la colonne sanguine le long de l'arbre vasculaire (Bura-Rivière et al., 2016) .....	35
<b>Figure 10</b> Variation de la viscosité sanguine dans l'arborescence vasculaire avec ces changements de vitesses de cisaillements (Connes et al., 2016).....	37
<b>Figure 11</b> Voies de signalisations qui mènent à la stimulation du NO et de la vasorelaxation (Bura-Rivière et al., 2016) : .....	45
<b>Figure 12</b> Contributeurs majeurs neurogénique du tonus vasomoteur des artéioles cutanées (Charkoudian, 2010) .....	49
<b>Figure 13</b> Vision d'ensemble sur les techniques les plus utilisées pour mesurer la fonction et la structure macro et microvasculaire .....	50
<b>Figure 14</b> Représentation schématique de la technique de microdialyse couplée à la technique de débitmétrie laser doppler avec chauffage local.....	54
<b>Figure 15</b> Endothélium sain (A) versus endothélium dysfonctionnel (B) .....	58
<b>Figure 16</b> Enzymes génératrices des EROs (en rose) et enzymes anti-oxydantes (en bleu) (Förstermann et al., 2017). .....	60
<b>Figure 17</b> Transmission de l'allèle anormale responsable de la drépanocytose.....	67
<b>Figure 18</b> Répartition de la drépanocytose (Piel, 2013) .....	68
<b>Figure 19</b> (A) Cette carte montre la distribution de l'allèle HbS. Les chiffres indiquent les estimations du nombre total annuel combiné d'individus affectés par l'HbSS, l'HbSC et l'HbS/ $\beta$ -thalassémie par région OMS (adapté de Modell et Darlison). (B) Cette carte montre la distribution mondiale du paludisme (en rouge) avant l'intervention pour contrôler le paludisme (Rees, Williams, et Gladwin 2010) .....	69
<b>Figure 20</b> Distribution historique et contemporaine de la drépanocytose (Piel, 2013) .....	70
<b>Figure 21</b> Polymérisation de l'hémoglobine S (Kato et al., 2018).....	73
<b>Figure 22</b> Processus de polymérisation des HbS à la falciformation des GRs SS (Ferrone, 2004).....	73
<b>Figure 23</b> Etapes des CVOs (Conran & Embury, 2021) .....	75
<b>Figure 24</b> Complications cliniques de la drépanocytose (Kato et al., 2018) .....	79
<b>Figure 25</b> Modèle putatif de la physiopathogénèse de la mort subite à l'exercice chez les PTDs .....	94
<b>Figure 26</b> Adaptations progressives durant la période d'acclimatation en environnements chaud (Périard & Racinais, 2019).....	117
<b>Figure 27</b> Sessions expérimentales au repos.....	129
<b>Figure 28</b> Sessions expérimentales d'exercice.....	129
<b>Figure 29</b> Sessions expérimentales de l'étude ancillaire .....	130
<b>Figure 30</b> sur cette figure on distingue en (flèche jaune) le dispositif Périmed, et la sonde thermique fixée au doigt du sujet en (flèche rouge) .....	132
<b>Figure 31</b> Sonde thermique du laser doppler .....	133

<b>Figure 32</b> Réponse standard d'un chauffage local par la méthode débitmétrie laser doppler schéma réalisé à partir de la mesure sur l'avant-bras chez un individu vivant en milieu tempéré par Roustit et Crawcoski (2013). .....	133
<b>Figure 33</b> Résultat obtenu après électrophorèse, (A) chez un PTD certifiant la présence HbS et (B) chez un CTL certifiant l'absence de cette HbS.....	142
<b>Figure 34</b> Ektocytamétrie avec sa courbe d'évolution d'élongation des GRs en fonction des contraintes de cisaillement.....	144
<b>Figure 35</b> Syllactogramme image adaptée de (Dobbe et al., 2003; Hardeman et al., 2001) .....	146
<b>Figure 36.</b> Les tracés moyennés de perfusion (PU) et ses déterminants en réponse au protocole de chauffage local chez les femmes en pré versus post-prandial à 20 °C (courbes grises) et à 31 °C (lignes noires).....	157
<b>Figure 37.</b> Perfusion (PU) et ses déterminants en réponse au protocole de chauffage local chez les hommes. ....	157
<b>Figure 38</b> Perfusion (PU) et ses déterminants en réponse au chauffage local chez les hommes. ....	158
<b>Figure 39</b> Perfusion (PU) et ses déterminants en réponse au chauffage local chez les femmes .....	159
<b>Figure 40</b> Pression artérielle moyenne (mmHg), température tympanique et cutanée.....	163
<b>Figure 41</b> Biomarqueurs de rhabdomyolyse (LDH, CPK Myoglobine) et biomarqueurs de l'atteinte cardiaque (CPK-MB, NT-pro BNP, troponine). .....	165
<b>Figure 42</b> Variation de la perfusion entre les PTDs (en bleu) et les CTLs (noir et gris). ....	168
<b>Figure 43</b> Variation de la perfusion cutanée entre les PTDs (lignes grises) et les CTLs (lignes noires). ....	175
<b>Figure 44</b> Comparaison de la concentration pro-oxydants .....	189
<b>Figure 45</b> Comparaison de la capacité anti-oxydantes et de la concentration NO plasmatique .....	190
<b>Figure 46</b> Comparaison de la glycémie (mmol/l) (A), de la lactatémie (mmol/l) (B) et insulinémie (mU/L) .....	192
<b>Figure 47</b> Cortisolémie .....	193
<b>Figure 48</b> Chambre d'organe isolé .....	224

# INDEX DES TABLEAUX

<b>Tableau 1</b> Composition et fonction cellulaire sanguine (cf figure 4).....	27
<b>Tableau 2</b> Récapitulatif des techniques les plus utilisées pour l'explorations fonctionnelles et structurelles vasculaires, réalisé à partir des sources suivantes : Cracowski & Roustit, 2020; Flammer et al., 2012; Johnson et al., 2014; Low et al., 2020; Neubauer-Geryk, 2019a;b ; Theodorakopoulou et al., 2020).....	56
<b>Tableau 3</b> $\alpha$ -thalassémie .....	64
<b>Tableau 4</b> Découvertes historiques sur la drépanocytose, tableau résumé (issu de Harris, 2001; Rees et al., 2010; Serjeant, 2010).....	65
<b>Tableau 5</b> Récapitulatif des formes de la drépanocytose adapté de (Rees et al., 2010).....	66
<b>Tableau 6</b> Résultats de la campagne de dépistage de la drépanocytose en 2016 (Cavazzana et al., 2018).....	71
<b>Tableau 7</b> récapitulatif des adaptations lors de l'acclimatation à un environnement chaud (Périard & Racinais, 2019; Tyler et al., 2016).....	118
<b>Tableau 8</b> Récapitulatif des différentes études durant ce travail de thèse .....	123
<b>Tableau 9</b> Critères d'éligibilité du projet TDEx .....	125
<b>Tableau 10</b> Critères d'éligibilité de l'étude ancillaire .....	126
<b>Tableau 11</b> Récapitulatif des biomarqueurs analysés en routine par le laboratoire agréé .....	140
<b>Tableau 12</b> Volume sanguin totale prélevé par session et sur l'ensemble du protocole TDEx.....	141
<b>Tableau 13</b> Résumé des variables analysées et choix des tests statistiques effectués .....	151
<b>Tableau 14</b> Caractéristiques générales des participants de l'étude ancillaire .....	154
<b>Tableau 15</b> Comparaison de la glycémie, PAM, T <sup>cut</sup> et T <sup>t ymp</sup> à jeun et en post-prandial, en environnement chaud (31 °C) vs en environnement neutre (20 °C), chez les hommes et chez les femmes.....	155
<b>Tableau 16</b> Caractéristiques anthropométriques des participants .....	160
<b>Tableau 17.</b> Valeurs au repos.....	161
<b>Tableau 18.</b> Valeurs à l'exercice.....	162
<b>Tableau 19</b> Comparaison des taux de sodium, potassium, chlore et de la réserve alcaline (Ionogramme) en pre à post-exercice entre les PTDs et les CTLs dans les différentes conditions environnementales. ....	167
<b>Tableau 20</b> Comparaison de la perfusion et l'hyperhémie (pic et plateau) entre les PTDs et les CTLs à 21 °C versus 31 °C .....	170
<b>Tableau 21</b> Variation du flowmotion & vasomotion des mesures de repos.....	172
<b>Tableau 22</b> Comparaison de la perfusion cutanée et l'hyperhémie (pic, plateau) entre les PTDS vs CTLs dans les différentes conditions environnementales .....	176
<b>Tableau 23</b> Comparaison des déterminants de la perfusion : CMBC et velocity entre les PTDs et les CTLs .....	178
<b>Tableau 24</b> Flowmotion & vasomotion .....	179
<b>Tableau 25</b> Comparaison des profils (PTDs et CTLs) hématologiques en pre et post-exercice dans les différentes conditions environnementales .....	183
<b>Tableau 26</b> Comparaison de la numération leucocytaire entre les PTDs et les CTLs en pre et post-exercice dans les différentes conditions environnementales .....	184
<b>Tableau 27</b> Comparaison des paramètres hémorhéologiques entre les PTDs et les CTLs en pré-exercice (T0) immédiatement post-exercice (T50) et durant la récupération (T180) dans les différentes conditions environnementales.....	186
<b>Tableau 28</b> Comparaison des propriétés micro-rhéologiques érythrocytaires entre les PTDs et les CTLs en pré-exercice (T0) immédiatement post-exercice (T50) et durant la récupération (T180) dans les différentes conditions environnementales.....	187
<b>Tableau 29</b> Comparaison des biomarqueurs selon le type d'exercice chez les PTDs vs CTLs présents dans la littérature .....	202

# ABREVIATIONS

## A

**Ach** : acétylcholine  
**AI** : l'indice d'agrégation  
**AMP** : adénosine monophosphate  
**AMPC** : adénosine monophosphate cyclique  
**AOPP** : produits avancés de l'oxydation des protéines  
**AS** : porteur du trait drépanocytaire  
**AVC** : accident vasculaire cérébrale

## C

**Ca<sup>2+</sup>** : calcium  
**CAM** : cell adhesion molecule  
**CAT** : catalase  
**CGRP** : calcitonin gene related peptide  
**Cl<sup>-</sup>** : chlore  
**CMBC** : concentration of moving blood cells  
**CMLV** : cellules musculaires lisses vasculaires **CO<sub>2</sub>**  
: dioxyde de carbone  
**CVC** : cutaneous vascular conductance  
**CVO** : crises vaso-occlusive

## E

**ECG** : électrocardiogramme  
**ECRC** : exercice en environnement chaud  
récupération en environnement chaud  
**ECRN** : exercice en environnement chaud  
récupération en environnement neutre  
**EDHF** : facteur hyperpolarisant dérivé de  
l'endothélium  
**EDRF** : endothelium derived relaxing factor  
**EI** : elongation index  
**ENRN** : exercice en environnement neutre  
récupération en environnement neutre  
**ERO** : espèces réactives de l'oxygène  
**ET-1** : endothéline -1

## F

**Fe<sup>2+</sup>** : ion ferreux  
**Fe<sup>3+</sup>** : ions ferriques  
**FRAP** : Ferric reducing ability of plasma  
**FC** : Fréquence cardiaque  
**FCmax** : Fréquence cardiaque maximale

## G

**GhR** : glutathion réductase  
**GMPc** : acide guanosine monophosphate cyclique  
**GPX** : glutathion peroxydase  
**GR** : globule rouge / **GRs** : globules rouges  
**Gr** : glutathion réductase  
**GSH** : glutathion  
**GSSG** : glutathion oxydé

## H

**H<sup>+</sup>** : ions hydrogène  
**HbA** : hémoglobine normale  
**HbF** : hémoglobine foetale  
**HbS** : hémoglobine S  
**HR** : Humidité relative  
**HPA** : Hypothalamo-hypophysaire surrénalien  
**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : peroxyde d'hydrogène

## I

**ICAM** : intercellular adhesion molecule  
**IL** : Interleukine

## K

**K<sup>+</sup>** : potassium

## L

**LDH** : lactate déshydrogénase  
**LDF** : Laser Doppler flowmetry

## M

**MDA** : malondialdehyde  
**metHb** : méthémoglobine  
**MCT-1** : transporteur monocarboxylates 1

## N

**NADP<sup>+</sup>** : nicotinamide adénine dinucléotide  
phosphate  
**NADPH** : nicotinamide adénine dinucléotide  
phosphate  
**NF- $\kappa$ B** : facteur de transcription nucléaire- $\kappa$ B  
**NO** : monoxyde d'azote  
**NO<sub>2</sub><sup>o</sup>** : dioxyde d'azote  
**NO<sub>3</sub><sup>-</sup>** : nitrate



**NOS** : oxyde nitrique synthase  
**eNOS** : endothelial Nitric Oxide Synthase

**$\dot{V}O_2\text{max}$** : Consommation maximale d'oxygène

## O

**O<sub>2</sub>** : oxygène  
**O<sub>2</sub><sup>°</sup>** : anion superoxyde  
**OH<sup>°</sup>** : radical hydroxyle  
**OMS** : organisation mondiale de la santé  
**ONOO<sup>-</sup>** : peroxyinitrite

## X

**XO** : xanthine oxydase

## P

**PAD** : pression artérielle diastolique  
**PAM** : pression artérielle moyenne  
**PAS** : pression artérielle systolique  
**PGI<sub>2</sub>** : prostacycline  
**pH** : potentiel hydrogène  
**PMA** : Puissance maximale aérobie  
**PU** : perfusion

## Q

**Q** : débit sanguin

## R

**r** : rayon  
**R** : résistance vasculaire  
**ROS** : radicaux dérivé de l'oxygène

## S

**SDM** : syndrome drépanocytaire majeur  
**SNA** : système nerveux autonome  
**SNP** : nitroprussiate de sodium  
**SOD** : superoxyde dismutase  
**SpO<sub>2</sub>** : saturation de l'Hb en oxygène

## T

**TBA** : acide 2-thiobarbiturique  
**T** : Température ambiante  
**T<sub>cen</sub>** : Température centrale  
**T<sub>cut</sub>** : Température cutanée  
**T<sub>rec</sub>** : Température rectale

## V

**VCAM-1** : vascular cell adhesion molecule  
**VFC** : variabilité de la fréquence cardiaque  
**VIP** : vasoactive intestinal polypeptide  
**VOP** : vitesse de l'onde de pouls  
**η** : viscosité sanguine

# ***INTRODUCTION***

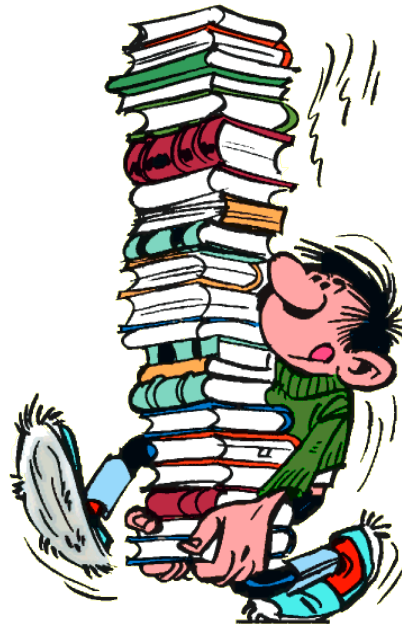
**L**a drépanocytose, est une hémoglobinopathie, monogénique, autosomique récessive. Elle représente à l'heure actuelle la maladie génétique la plus fréquente dans le monde, avec 3.2 millions de personnes touchées : on compte également 300 millions de porteurs du trait (hétérozygotie) (Piel, 2013). Le terme drépanocytose englobe plusieurs syndromes ayant en commun la production d'une hémoglobine anormale S (HbS), au lieu de l'hémoglobine normale A (HbA). La synthèse de cette l'HbS anormale est causée par une mutation génétique. En condition désoxygénée, cette HbS a tendance à polymériser entraînant la falciformation des globules rouges qui caractérise la maladie. La forme homozygote (HbSS) considérée comme étant la plus sévère, est marquée par une physiopathologie complexe, multifactorielle, aboutissant à des complications graves, engageant le pronostic vital des patients. Les drépanocytes rigides et fragiles induisent chez les patients une anémie chronique et contribuent au développement des crises vaso-occlusives.

**La forme hétérozygote (HbAS)** est traditionnellement considérée comme étant bénigne, les porteurs du trait drépanocytaire (PTDs) contrairement aux patients drépanocytaires héritent d'un faible pourcentage d'HbS (< 40 %) ce qui leur confère une certaine forme de protection. Paradoxalement, à l'exercice cette présence d'HbS, même à faible pourcentage, a été associée chez les jeunes militaires et civils sportifs à des événements graves parfois mortels (Anzalone et al., 2010; Hedreville et al., 2009; Nelson et al., 2018; Thogmartin et al., 2011). De nombreux rapports d'autopsie ont confirmé la falciformation des GRs, mais pour l'heure les preuves d'un tel phénomène *ante-mortem* sont insuffisantes. Les rapports de cas et certaines études épidémiologiques indiquent qu'une intensité d'exercice élevée peut présenter des risques majeurs d'effondrement dans le contexte du TD (Anzalone et al., 2010; Hedreville et al., 2009; Nelson et al., 2018; Thogmartin et al., 2011). Une attention particulière doit aussi être accordée aux conditions environnementales chaudes. En effet les perturbations hémorhéologiques peuvent être accentuées par l'effet de la déshydratation dans ces conditions. Bien que ces sujets ne présentent pas de risque accru de coup de chaleur, la probabilité de décéder de cet événement est augmentée chez les PTDs comparativement aux personnes à hémoglobine normale (Nelson et al., 2018; Singer et al., 2018).

A ce jour, les mécanismes qui sous-tendent ces complications n'ont pas été clairement définis. Une augmentation de la viscosité sanguine et une légère diminution de la déformabilité des globules rouges (GR) ont été signalées après l'exercice chez les PTDs et il a été suggéré que ce profil rhéologique spécifique pouvait altérer le flux sanguin dans la microcirculation (Tripette et al., 2013). Un état pro-oxydant, pro-inflammatoire/adhésif accru et un remodelage vasculaire ont également été observés chez les PTDs (Faës et al., 2012 ; Monchanin et al., 2008 ; Tripette et al., 2010). Malgré les preuves évidentes d'altérations vasculaires aucune étude ne s'est intéressée aux spécificités microvasculaires des PTDs, tant au repos qu'après un exercice intense.

**Dans ce contexte, l'objectif de ce projet de thèse était de comparer la fonction microvasculaire et ses déterminants en réponse à un exercice intense effectué dans un environnement témoin ou chaud entre les porteurs du trait drépanocytaire (PTDs) et leurs homologues contrôles (CTLs). L'objectif secondaire était de comparer les biomarqueurs sanguins circulants des lésions musculaires et cardiaques et les réponses au stress oxydatif à l'exercice et au stress environnemental entre les deux groupes.**

*REVUE*  
*DE*  
*LITTÉRATURE*



---

# Chapitre I

## Physiologie du système circulatoire

Le système circulatoire est un système clos d'environ 100 000 km, qui se compose d'un réseau de conduits (les vaisseaux) qui achemine un liquide (le sang) propulsé par une pompe (le cœur).

Il comprend deux types de circulations : **La circulation pulmonaire** qui permet de réoxygéner le sang et de se débarrasser du dioxyde de carbone. **La circulation systémique** qui permet de distribuer le sang à tous les tissus de l'organisme.

La fonction essentielle de ce système est d'assurer le transport du sang dans l'organisme. Les vaisseaux qui composent en majeure partie ce système sont également impliqués dans d'autres fonctions comme la transmission d'information, la régulation de la température, la réponse immunitaire.

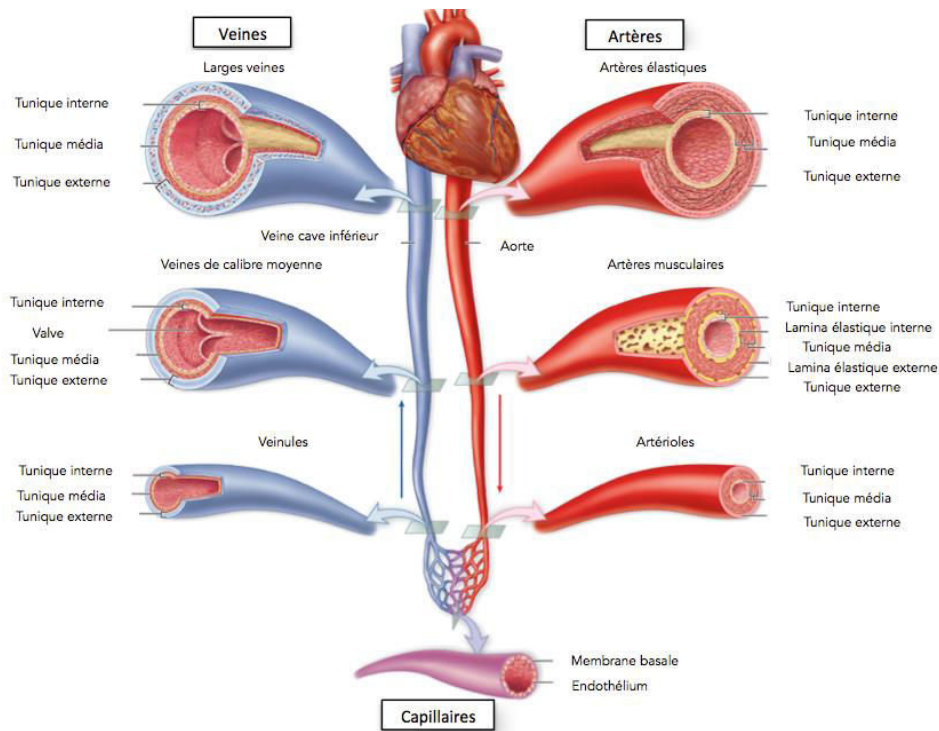
**Dans ce travail de thèse nous avons accordé une attention particulière à l'écoulement sanguin, c'est la raison pour laquelle dans cette partie nous décrirons tout d'abord les structures dans lesquelles le sang circule (artères, veines et capillaires) puis nous passerons en revue les composés du sang. Pour finir nous décrirons brièvement les lois hémodynamiques qui régissent l'écoulement sanguin (l'interaction sang/vaisseaux)**

## A. Structures vasculaires

### 1. Architecture pariétale

L'arbre vasculaire est constitué de plusieurs structures (*figure 1*), organisées elles-mêmes en une succession de couches cellulaires et composants tels que : des fibres de collagène, d'élastine, de cellules musculaires lisses vasculaires (CMLVs) et endothéliales (CEs) qui assurent le mouvement dynamique du sang.

- *Les fibres d'élastine* apportent élasticité et résilience aux vaisseaux pour résister aux fortes pressions (Lannoy et al., 2014). On retrouvera ces fibres dans la média et au niveau des lames limitantes interne et externe. Elles s'organisent en lames concentriques interconnectées avec les cellules musculaires lisses vasculaires. Elles représentent 40% des fibres dans les artères élastiques comme l'aorte et seulement 10% pour les artères musculaires.
- *Les fibres de collagène* sont formées de plusieurs protéines de collagène qui assurent la résistance mécanique aux vaisseaux afin d'éviter leur distension. Elles sont situées au niveau de la couche la plus externe des vaisseaux, « l'adventice ». L'étirement des fibres de collagène ne devient significatif que pour des forces de traction importantes
- *Les cellules musculaires lisses vasculaires* contrôlent la pression et la répartition du débit sanguin en régulant le tonus vasculaire. Principalement situées au niveau de la média des vaisseaux elles possèdent une grande plasticité en réponse aux stimuli locaux et systémiques, ainsi elles participent activement au remodelage pariétal à l'état physiologique comme pathologique.
- *Les cellules endothéliales* sont une population de cellules directement en contact avec les cellules sanguines.



**Figure 1** Architecture des différents vaisseaux (Sherwood, 2015)

Ces différents composants s'organisent en couches concentriques et forment trois couches communes à la majorité des vaisseaux ; de la lumière du vaisseau à l'extérieur on trouve : l'intima, la média et l'adventice.

**Adventice** : correspond à la couche conjonctive la plus externe, qui repose sur une lame limitante élastique qui sépare la média de l'adventice. Sa matrice extracellulaire est constituée de fibroblastes, de longues fibres de collagène longitudinales, de fibres élastiques, de protéoglycanes, de tissu adipeux. Ces éléments offrent une certaine rigidité et permettent de rattacher les artères et veines aux tissus environnants. Elle reçoit également des terminaisons nerveuses (nervi vasorum) et vasculaires (vasa vasorum) servant à alimenter la média lorsque le vaisseau excède 0.5 mm.



**Media** : les propriétés biomécaniques de la paroi vasculaire sont conditionnées par l'épaisseur et la composition de cette couche. Son architecture (proportion de cellules musculaires, fibres de collagène) est adapté à la fonction du vaisseau ; ainsi les artères élastiques auront une proportion en élastine plus importante par rapport aux artères de résistances permettant de remplir leur fonction d'amortisseur. Elle se retrouve entre deux lames limitantes élastiques : une interne qui la sépare de l'intima et une externe qui la sépare de l'adventice. La média est organisée en plusieurs couches composées essentiellement de tissu conjonctif et de cellules musculaires lisses.

**L'intima ou endothélium** : est formé d'une monocouche de cellules endothéliales, ancrées dans une fine lame basale d'environ 80 nm. La lame basale correspond à une fine couche de tissu conjonctif constituée de collagène, d'élastine, de fibronectine et de protéoglycanes. Séparé de la média par une lame limitante élastique, cet ensemble tapisse la totalité de l'arbre vasculaire.

Ces cellules endothéliales sont en contact direct avec le flux sanguin fournissant ainsi une vaste surface d'échange entre les composés circulant du sang et les tissus.

*En fonction des rôles des vaisseaux, leurs parois sont organisées de manière distincte.*

## 2. Les différentes structures vasculaires

### *a) Les artères*

Les artères conduisent le sang depuis le ventricule gauche aux organes périphériques. La variation de proportion des composants cellulaires (CMLVs, fibres d'élastine et de collagène) permet de distinguer les artères élastiques, musculaires et les artérioles.

**Artères élastiques ou de conductance** Elles se composent surtout de fibres élastiques soit 40%, cette proportion peut atteindre 70% pour l'aorte ascendante. On note également environ 35% de fibres de collagène. Cette composition leur permettra d'amortir le flux pulsatile et discontinu à la sortie du cœur pour un flux continu à pression élevée dans les artères distales.

Lors de la systole une quantité de sang donnée de l'ordre de 70 mL est éjectée par le ventricule gauche au niveau de l'aorte, celle-ci va alors se déformer pour accueillir ce volume et emmagasiner l'énergie produite par la pression d'éjection. Puis lors de la diastole l'aorte conduit ce volume de sang dans la circulation systémique, ainsi elle reprendra sa forme initiale (effet Windkessel). Stephen Hales, en 1733, a reconnu l'importance de l'élasticité artérielle dans la fonction cardiovasculaire et Otto Frank, en 1895, a formalisé les idées de Hales dans un modèle mathématique de l'effet Windkessel (Parker, 2009). Un Windkessel est une chambre à air qui était utilisée dans les voitures de pompiers au XVIIIe siècle pour convertir un pompage pulsatile en un débit d'eau constant, dans l'organisme ce rôle est assuré par les artères de conductance, dans des conditions physiologiques.

**Les artères musculaires** (coronaires, artères cérébrales, rénales, artères des membres) situées plus en périphérie contiennent moins de fibres élastiques soit 35% pour une proportion de cellules musculaires plus abondante. Cette composition leur confère une marge de contractilité plus vaste leur permettant de conserver un flux sanguin constant. La pression sanguine étant plus basse à mesure que l'on s'éloigne du cœur, la capacité des cellules musculaires à se contracter et relaxer (vasomotricité) permettra un écoulement continu dans les territoires distaux. C'est pour cette raison qu'elles sont aussi nommées artères de distribution.

**Les artérioles** (10 à 15  $\mu\text{m}$ ) sont situées en aval des capillaires, elles raccordent ces derniers au système artériel, les artérioles sont riches en fibres élastiques et en cellules musculaires lisses. Cette architecture permet aux artérioles d'assurer la distribution aux tissus. En ce sens, leur adventice présente de nombreuses terminaisons nerveuses qui régulent le tonus vasomoteur.

## **b) Les veines**

Les veines assurent deux fonctions primordiales au sein du réseau vasculaire : (1) Conduction du sang des organes distaux au cœur (2) Réservoir sanguin qui contient environ deux tiers du volume sanguin (capacitance), le sang y circule sous faible pression. Cette partie du réseau se décline en trois structures des capillaires au cœur.

Le sang sera drainé successivement par les veinules post-capillaires, les veines de petits calibres, les moyennes veines et enfin les veines larges. On retrouve les trois tuniques : l'intima, la média et l'adventice. Les plus grosses veines comportent des valvules pour éviter le reflux et diriger le sang vers le cœur.

Les veines intracrâniennes et les grosses veines du tronc ont un volume fixe ; elles ne jouent aucun rôle dans la régulation hémodynamique.

- Les veines musculaires ont un volume variable selon l'activité des muscles squelettiques, mais ce volume ne participe pas à la régulation hémodynamique.
- Les veines sous-cutanées d'une capacité de 450 ml et la veine porte avec le territoire hépatosplanchnique d'une capacité de 1 500 ml constituent le réservoir veineux impliqué dans la régulation hémodynamique. La contenance de ce réservoir veineux est facilement modulable par le système adrénérique. Une veino-constriction permet de redistribuer le sang à partir de ces réserves, ce qui augmente le débit cardiaque par augmentation du retour veineux et donc augmente la pression artérielle. Cette possibilité d'adapter très rapidement la capacité de réserve aux variations de la volémie est mise en œuvre, par exemple, pour limiter les perturbations liées à une hémorragie importante.

### c) Les capillaires

Les capillaires ont un diamètre compris entre 5 à 10  $\mu\text{m}$ , ces vaisseaux représentent une surface d'échange considérable (6 300  $\text{m}^2$ ) entre les cellules circulantes et le secteur interstitiel grâce à leur paroi extrêmement fine (1  $\mu\text{m}$ ) (*figure 2*). Les capillaires forment une monocouche de cellules endothéliales ancrée dans une fine lame basale, dépourvue de cellules musculaires lisses et de tissu conjonctif. Cette architecture favorise la diffusion. Les capillaires sont courts et leur faible diamètre impose une forte résistance à l'écoulement sanguin, par conséquent le flux sanguin est sous basse pression et la vitesse d'écoulement faible (1mm/sec). L'espace entre les cellules endothéliales et les éléments en circulation est de 0.1 mm, ces vaisseaux étant à peine plus grands que certaines cellules (globules rouges) ces dernières sont contraintes de s'organiser en file indienne pour circuler. Les péricytes jouent un rôle dans la contraction et favorisent les échanges.

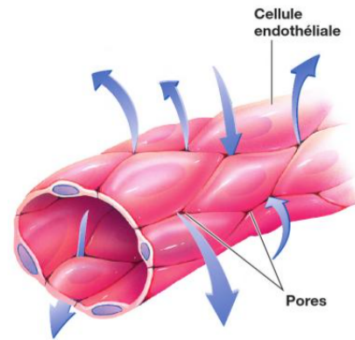


Figure 2 Capillaires sanguins (Sherwood, 2015)

#### d) Anastomoses artério-veineuses

Les anastomoses artério-veineuses (AVAs) sont des connexions directes entre les petites artères et les petites veines. Les AVAs, forment des segments vasculaires courts avec un grand diamètre interne et une paroi musculaire très épaisse, densément innervés par des axones adrénergiques. Ces structures se retrouvent à faible quantité dans de nombreux organes et tissus. Chez l'homme, c'est au niveau de la peau et des muqueuses que l'on retrouve la majeure partie des AVAs. Ne comportant pas de capillaire, ces structures ne peuvent pas transporter de substances dissoutes vers ou depuis les tissus. Les AVAs jouent un rôle important dans la régulation de la température corporelle, en transportant la chaleur du noyau vers la périphérie. Elles fournissent une connexion à faible résistance entre les artères et les veines, en dirigeant le sang directement dans les plexus veineux des membres (Walløe, 2015).

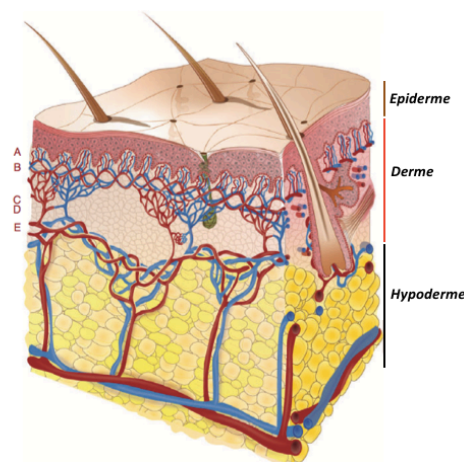
### 3. Particularités de la microcirculation cutanée

La peau est un organe complexe qui s'étend sur toute la surface du corps (1.5 à 2 m<sup>2</sup>), formant une véritable interface dynamique entre l'environnement externe et les structures internes de l'organisme. D'un point de vue structurel cet organe est constitué de deux parties une superficielle *l'épiderme* et une partie profonde composée du *derme* et de *l'hypoderme* l'ensemble représente environ 10 à 15% du poids total du corps.

Plus qu'une simple barrière, son vaste réseau microvasculaire joue un rôle effecteur majeur dans la thermorégulation, étant donné sa capacité complexe à diriger le sang des structures profondes vers la surface du corps où il peut échanger de la chaleur avec l'environnement pour répondre aux exigences intégratives de la physiologie humaine.

La microcirculation cutanée comprend des vaisseaux d'un diamètre inférieur à 150  $\mu\text{m}$ , c'est-à-dire des artérioles terminales, des petites veines, des capillaires en boucles, des vaisseaux lymphatiques et des anastomoses artério-veineuses (Braverman, 1997, 2000). Ces structures sont organisées en deux plexus : superficiel et profond, parallèle à la surface de la peau (Braverman, 1997). C'est à leur niveau que s'effectuent les échanges entre le sang et les tissus, leur grande surface d'échange et leur localisation sont des atouts pour la thermorégulation (Johnson et al., 1995). Les changements de calibre des artérioles cutanées sont assurés par des mécanismes complexes neuronaux (réflexes) et locaux (substances vasoactives) combinés (Johnson et al., 2014 ; Kellogg, 2006).

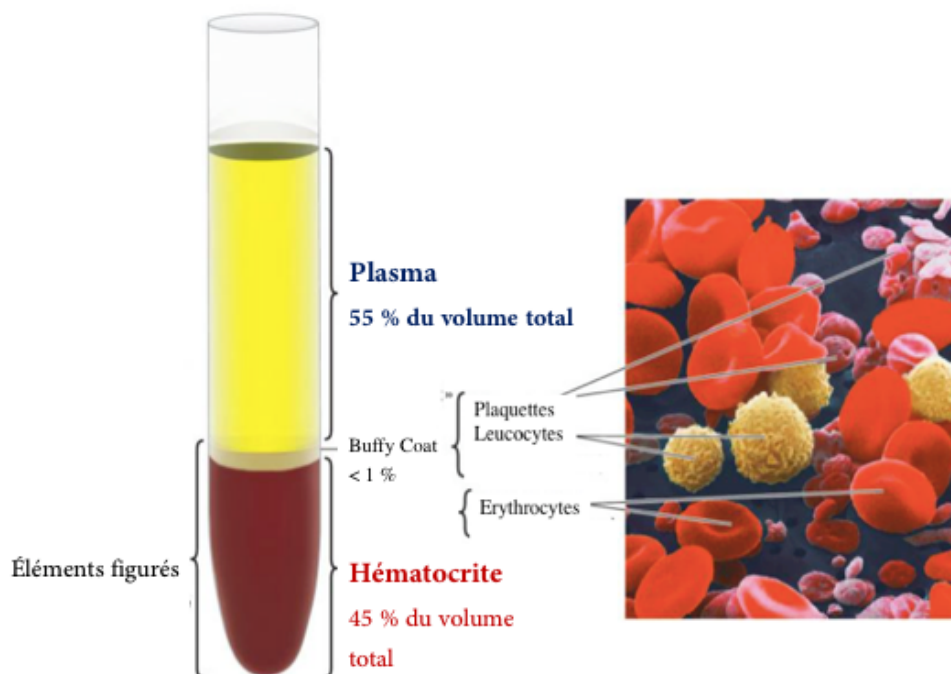
- (1) *La peau glabre* recouvre les organes spécialisés dans la perte de chaleur non évaporative, chez l'homme les structures concernées se trouvent au niveau des parties distales du corps soit la paume des mains, la plante des pieds (Romanovsky, 2014a). Elle se caractérise notamment par l'absence de poils, une vascularisation dense constituée de nombreuses anastomoses artério-veineuse et de lits capillaires denses qui possèdent un rapport surface-volume important (Walløe, 2015). En raison de ses caractéristiques, elle participe à deux réponses thermo-effectrices opposées, qui font varier rapidement la température au niveau de ces zones cutanées qui sont souvent plus basses.
- (2) *La peau velue* recouvre la quasi-totalité du corps, et est caractérisée par l'absence d'AVAs et par la présence de follicules pileux, ces caractéristiques lui confèrent le rôle d'isolant thermique. Dans ce cas, la température est plus stable car souvent couverte par des vêtements.



**Figure 3** Structure microvasculaire cutanée (A) boucles capillaires, (B) plexus superficiel, (C) artérioles ascendantes, (D) AVAs, (E) plexus profond. Image adaptée de (Cracowski & Roustit, 2020)

## B. Le sang et ses composants

Le sang est un tissu conjonctif fluide circulant dans les vaisseaux sanguins. Il se compose de globules rouges, de globules blancs, de plaquettes, de nutriments, d'hormones et d'électrolytes qui sont en suspension dans le plasma (*figure 4 et table 1*). Ce liquide représente environ 8 % du poids corporel et détient plusieurs rôles essentiels : transport de l'oxygène, des nutriments et d'autres composés importants pour le maintien de l'équilibre du milieu intérieur (Brooker, 2000), régulation de l'homéostasie et protection par le système immunitaire.



**Figure 4** Composition cellulaire du sang humain, schéma modifié (Sherwood, 2015)

**Tableau 1** Composition et fonction cellulaire sanguine (cf figure 4)

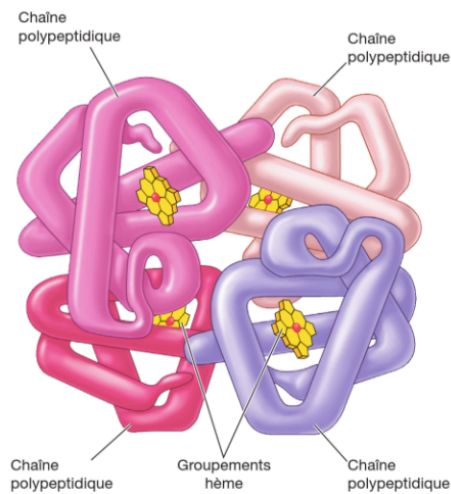
<b>Plasma (liquide)</b>		<b>Eléments figurés (solide)</b>	
<b>55% du volume total du sang</b>		<b>45% du volume total du sang</b>	
<b>Composante</b>	<b>Fonction</b>	<b>Composante</b>	<b>Fonction</b>
<b>Eau</b>	Solvant universel	<b>Erythrocyte ou hématies ou globules rouges</b>	Transport du dioxygène, dioxyde de carbone et des protons H <sup>+</sup>
<b>Electrolytes ions (calcium, potassium, magnésium, chlore, HCO<sub>2</sub>)</b>	Régulation osmotique effet tampon, perméabilité membranaire influx nerveux	<b>Leucocytes ou globules blancs</b>	Immunité
<b>Protéines plasmatiques</b>	Immunité, coagulation, régulation du pH, enzymes, autres	<b>Thrombocytes ou Plaquettes</b>	Coagulation, inflammation réparation
<b>Substances transportées par le sang</b>	Glucose, oxygène, urée, dioxyde de carbone, hormones autres		

### a) Les globules rouges

Les globules rouges (GRs) ou érythrocytes ou encore hématies, sont des cellules discoïdes, biconcaves d'une dimension de 6.2- 8.2 microns. Ils ont été décrits pour la première fois par Jan Swammerdam et Antoni van Leeuwenhoek grâce à l'invention du microscope. Ainsi ils ont pu observer que ces cellules occupent 45% du volume sanguin total faisant d'elles les cellules principales du sang. En dehors des cas pathologiques, la grande capacité de déformabilité des GRs leur permet de se faufiler aisément dans les plus petits vaisseaux (Li et al., 2007). Cette capacité est indispensable pour leur fonction de transporteurs d'oxygène. Les GRs sont produits dans la moelle osseuse hématopoïétique, leur durée de vie est limitée à 120 jours (Shemin et Rittenberg, 1946).

Les GRs sont des cellules qui permettent l'oxygénation tissulaire car ils assurent le transport de l'oxygène des poumons aux tissus grâce à l'affinité de l'oxygène pour l'hémoglobine, et véhiculent le gaz carbonique des tissus aux poumons. Chaque GR possède environ 250 millions de molécules d'hémoglobine (figure 5).

## L'hémoglobine



**Figure 5** Structure de la molécule d'hémoglobine adulte normale (Sherwood, 2015)

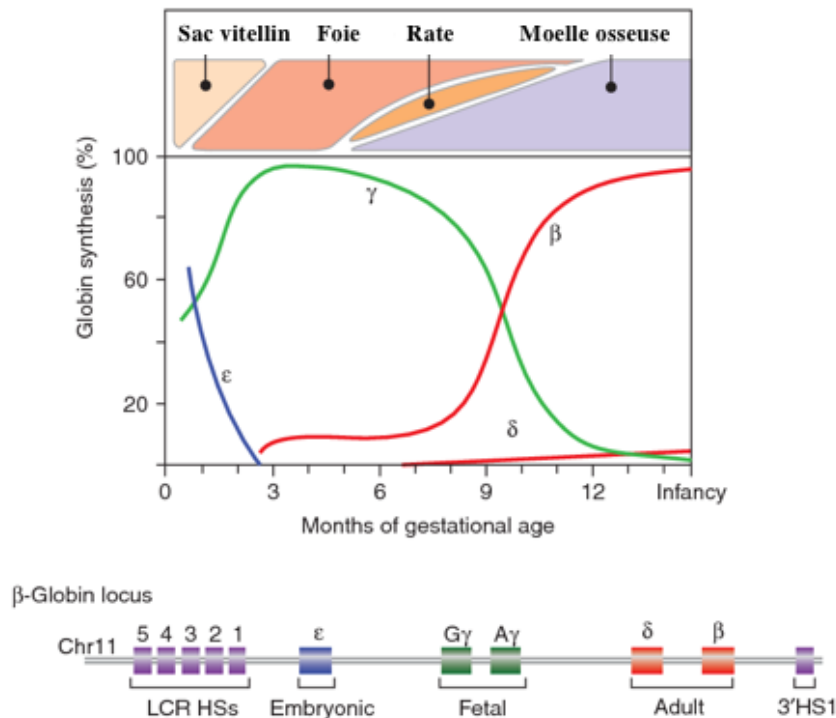
L'hémoglobine noté Hb (*figure 5*), caractérise le pigment respiratoire (colorée naturellement) contenu dans les érythrocytes pour le transport de l'oxygène et du dioxyde de carbone. Elle a été notée ainsi par Hoppe-Seyler en 1862. On retrouve la myoglobine qui est le pigment contenu dans les cellules musculaires.

L'hémoglobine est un tétramère (4 protomères) constituée de quatre chaînes polypeptidiques deux à deux identiques : deux de type alpha constituées de 141 acides aminés et deux chaînes de type beta constituées de 146 acides aminés (Dickerson et Gies, 1972). Ces 4 chaînes sont repliées en sandwich renfermant chacune en leur centre une structure non protéique imbriquée par l'ion  $Fe^{2+}$  « l'hème ». L'hème est le site privilégié de fixation du dioxygène et du gaz carbonique (*Figure 5*) (Steinberg et al., 2009). Dans les poumons le monoxyde d'azote agent vasodilatateur se lie à l'hémoglobine. Il est libéré dans les tissus où il dilate les artérioles localement, ce qui facilite l'arrivée de l'oxygène. L'association et la dissociation systématiques de l'oxygène avec le Fe (II), réglées sur la pression partielle de l'oxygène dissout dans le sang, permettent à la molécule d'hémoglobine d'être un transporteur d'oxygène des poumons aux tissus. La combinaison de l'oxygène-Hb représente une fraction plus importante que l'oxygène dissout directement.



Sachant que le taux d'Hb normal est d'environ 15 g pour 100 ml de sang et qu'il peut se lier à environ 1.39 ml d'oxygène cela représente environ 20.9 ml d'oxygène transporté par l'Hb, ainsi, cela prouve son rôle majeur dans le transport de l'oxygène. Cela sera d'autant plus utile lors de l'exercice où la demande est multipliée.

Il existe différents types de globines chez l'humain elles forment des hémoglobines différentes, variant en fonction de l'âge de l'individu et des anomalies (Inusa et al., 2019).



**Figure 6** Evolution de l'hémoglobine en fonction de l'âge hors des conditions pathologiques (Sankaran & Orkin, 2013)

Chez l'embryon : à ce stade l'hémoglobine est formée, de deux fois deux chaînes associées : Gower 1 ( $\zeta_2\varepsilon_2$ ), Portland ( $\zeta_2\gamma_2$ ) ou Gower 2 ( $\alpha_2\varepsilon_2$ ).

Durant la vie fœtale, L'hémoglobine fœtale (HbF) forme présente à hauteur de 90% depuis la 6<sup>ème</sup> semaine jusqu'à la naissance, son affinité pour l'oxygène est plus élevée que celle de l'adulte. Elle est formée de deux chaînes  $\alpha$  et deux chaînes  $\gamma$  ( $\gamma$  Ala ou  $\gamma$  Gly), codées par des locus génétiques sur les chromosomes 16 et 11, respectivement (Sankaran & Orkin, 2013).

Chez l'adulte : plus de 95% de l'hémoglobine est de type A1 ( $\alpha_2\beta_2$ ). L'hémoglobine A2 ( $\alpha_2\delta_2$ ) ne dépasse pas 3%, bien que cela soit sujet à des variations.

## C. Régulation vasculaire et modalités d'écoulement

### 1. Grands principes hémodynamiques

La régulation du volume sanguin se fait par l'interaction entre la composante *statique* ou plutôt dynamique, « les vaisseaux » et la composante *liquide*, « le sang » qui traverse ces structures. Trois grandes variables reflètent l'homéostasie vasculaire : la pression artérielle moyenne, le débit cardiaque et les résistances vasculaires systémiques. Le sang n'étant pas un liquide newtonien sa viscosité varie avec en fonction des forces de contraintes qui s'appliquent. Par conséquent, les lois qui régissent l'écoulement sanguin sont complexes. Néanmoins, elles peuvent être appréhendées par des principes généraux de la dynamique des fluides.

#### a) *Pression artérielle : fonction motrice principale*

Le volume de sang propulsé par le cœur exerce une force perpendiculaire contre la paroi des vaisseaux, cette pression (P) sera nécessaire pour déplacer le sang dans l'arbre vasculaire. Cette variable est appelée pression artérielle par opposition à la tension artérielle qui elle correspond à la force appliquée par les vaisseaux sur la colonne sanguine ces deux notions de même valeur sont équivalentes. Elle est exprimée au travers de deux mesures de pressions : une maximale atteinte lors de la systole (lorsque le cœur se contracte) et une minimale atteinte lors de la diastole (lorsque le cœur se relâche). La pression artérielle est finement régulée car son maintien est indispensable à la circulation sanguine.

*La loi de Darcy* résume parfaitement la relation qui lie le débit le gradient de pression et les résistances systémiques

$$\Delta P = RPT \cdot \dot{Q}C$$

(QC) :  $\Delta P$  gradient de pression ; RPT résistances périphériques totales ; débit cardiaque

$$\dot{Q}C = (PAM - PVC)/RPT$$

(QC) : débit cardiaque ; PAM pression artérielle moyenne ; PVC pression veineuse centrale ; RPT résistances périphériques totales).



La pression artérielle est continuellement ajustée, dans ce sens les barorécepteurs (récepteurs sensibles aux variations de pressions) carotidiens et aortiques fournissent des informations précieuses pour déclencher les mécanismes qui servent à maintenir la pression artérielle. On distingue deux types de réajustements : **à court terme** agissant en quelques secondes sur le débit cardiaque et les résistances périphériques sous la commande nerveuse autonome. En agissant sur le cœur (FC) et en modulant le diamètre des artérioles périphériques. **A long terme**, ces ajustements passent par la variation du volume sanguin (soif, volume urinaire).

### b) Le débit sanguin

Le débit ( $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ) correspond au volume sanguin s'écoulant dans un vaisseau, un organe ou le système circulatoire entier à un temps donné. Le débit cardiaque lui-même est dépendant du volume d'éjection systolique et la fréquence cardiaque comme nous venons de le décrire dans la relation précédente. La fraction du débit cardiaque est variable à chaque organe en fonction des besoins en sang du moment. Si l'on rappelle la relation suivante :

$$\dot{Q}C = \Delta P \cdot RPT$$

En partant du principe que la pression moyenne est identique au niveau des artérioles, la quantité de sang dépendra alors de la vascularisation du tissu (nombre de microvaisseaux) et des résistances (viscosité etc..) qui s'opposent à son écoulement. Le sang s'oriente donc vers les régions où les résistances sont les plus faibles. Pendant l'exercice (*figure 8*), il y a non seulement une augmentation du débit (via élévation de la FC) mais également une augmentation de son pourcentage dédié aux muscles squelettiques en adéquation avec l'augmentation de leur activité métabolique. On note une vasodilatation locale pour faire face à l'accroissement de la demande grandissante des muscles en activité. La régulation de la vasomotricité artériolaire sera décrite dans une partie ultérieure de ce chapitre.

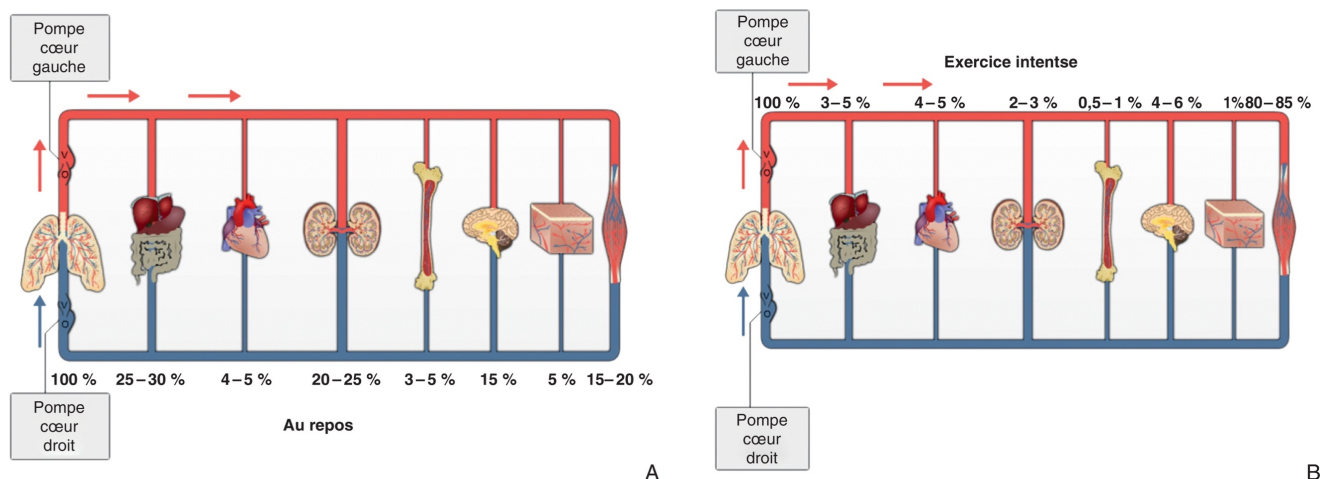


Figure 8 Répartition systémique du débit cardiaque au repos (A) versus à l'exercice (B)

### c) Résistances systémiques

La pression artérielle est la résultante d'un équilibre entre le flux sanguin entrant dans les artéoles dépendant du débit cardiaque (composante centrale) et du flux sortant des artéoles pour être distribué au niveau des capillaires dépendant des résistances systémiques (composante périphérique). Les résistances à l'écoulement s'opposent au débit qui dépend principalement du diamètre des artéoles. En effet, si l'on considère les artères et les veines, leur grand diamètre n'offre que très peu de résistance à l'écoulement, d'où le fait qu'ils soient qualifiés de vaisseaux de conduits.

*A contrario*, les artéoles offrent de grandes résistances de par leurs faibles diamètres d'où le fait qu'elles soient qualifiées de vaisseaux de résistances. Leurs parois sont riches en CMLVs qui sont elles-mêmes très sensibles aux facteurs vasoactifs, leur permettant de moduler leur diamètre et la pression artérielle.

Ainsi, si l'on considère les vaisseaux sanguins à des cylindres longs et étroits, les résistances systémiques peuvent être décrites par la loi de Poiseuille-Hagen :

$$R = 8\eta L / \pi r^4$$

Montrant que les résistances à l'écoulement d'un liquide visqueux au travers d'un cylindre sont proportionnelles à la viscosité du liquide et à la longueur du cylindre d'une part et d'autre part inversement proportionnel au rayon à la puissance 4 de ce dernier.

- **L** la longueur du vaisseau, qui est relativement constante. Plus le vaisseau est long et plus il offre de résistances (*figure 9*).
- **$\eta$**  la viscosité du liquide, est totalement dépendant de la composition sanguine : le nombre de globules rouges et la concentration des protéines circulantes (fibrinogène). La viscosité sanguine dépend de la viscosité plasmatique et des propriétés des globules rouges en circulation (déformabilité et agrégabilité de ces cellules) qui peuvent être quantifiables par des mesures hémorhéologiques.
- **r** le rayon du vaisseau, médiateur majeur puisqu'il s'élève à la puissance 4 plus le rayon d'un vaisseau où le conduit est étroit et plus il offre de résistances, les artérioles possèdent une capacité importante pour assurer une perfusion tissulaire adéquate ayant des effets majeurs pour la régulation de la pression artérielle (cf-régulation de la vasomotricité).

Pour une même pression d'étirement la tension appliquée à la paroi vasculaire sera inversement proportionnelle au rayon du vaisseau. En accord avec *la loi de Laplace* qui montre que les forces exercées par la paroi vasculaire sont proportionnelles à la pression sanguine et inversement proportionnelle au rayon du vaisseau (*figure 9*).

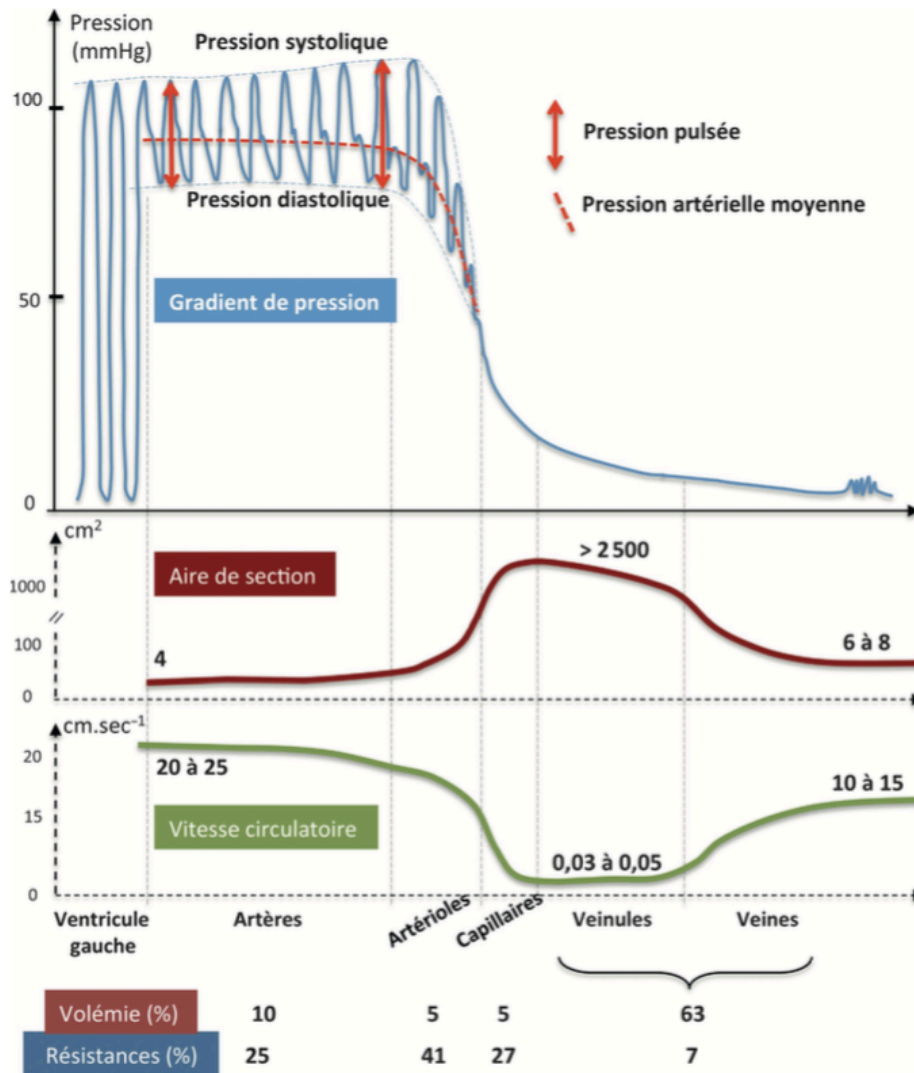
$$T = P \times r$$

Ou P correspond à la pression transmurale c'est-à-dire la différence entre les pressions internes et externes

Ou r correspond au rayon du vaisseau dépendant ainsi de sa capacité à se dilater ou se contracter

Et T correspond à la tension pariétale dépendante de la pression appliquée par la colonne sanguine S (stress) et de l'épaisseur (e) de la paroi.

Ainsi les fines parois des artérioles et des capillaires résistent mieux aux pressions relativement élevées.



**Figure 9** Ecoulement de la colonne sanguine le long de l'arbre vasculaire (Bura-Rivière et al., 2016)

### (1) Hémorhéologie

Les résistances varient en fonction de plusieurs paramètres tels que le rayon, la vasomotricité des vaisseaux (qui seront abordés ultérieurement), et la viscosité du sang. Il existe une branche de la rhéologie applicable à l'écoulement sanguin, « hémorhéologie ». On doit une avancée considérable pour ce domaine d'étude au physiologiste Jean-Léonard-Marie Poiseuille (Poiseuille, 1844). La circulation sanguine est dépendante d'un gradient de pression entre le cœur et la périphérie, et entraîne une force de friction de la colonne sanguine contre la surface des cellules endothéliales appelée « contraintes de cisaillement ». Ce déplacement progressif d'une couche par rapport à une autre se fait selon un gradient de vitesse. Sa vitesse dépendra des contraintes de cisaillement donc de la viscosité de ce fluide.

La viscosité exprime la plus ou moins grande facilité avec laquelle les différentes couches d'un liquide peuvent se déplacer les unes par rapport aux autres.

#### **On distingue deux catégories de fluides :**

- ✚ Les fluides Newtoniens qui font référence aux fluides dont la viscosité ne varie pas, elle est indépendante des contraintes ou des vitesses de cisaillement. L'eau et le plasma, huile et la plupart des solvants sont des exemples.
- ✚ Les fluides non Newtoniens *a contrario*, ont une viscosité qui varie en fonction des contraintes/vitesses de cisaillement. Le sang s'inscrit dans ce modèle.

Le sang est un liquide non newtonien, thixotrope<sup>1</sup> et viscoélastique. Ce qui signifie qu'à une température cible, sa viscosité varie en fonction de la vitesse ou des contraintes de cisaillement qui lui sont appliquées. Lorsque la vitesse est élevée, la viscosité diminue, et lorsque que la vitesse diminue la viscosité augmente, d'où son comportement rhéofluidifiant (*figure 10*).

Ainsi lorsque les taux de cisaillement sont diminués la viscosité du sang augmente, ce qui favorise l'agrégation des érythrocytes entre eux et contribue à la stase vasculaire. A l'inverse, lorsque ces forces augmentent la viscosité sanguine diminue, les cellules se désagrègent, et sont poussées dans le sens de l'écoulement en raison de leur déformabilité faisant appel à leur caractéristique viscoélastique.

---

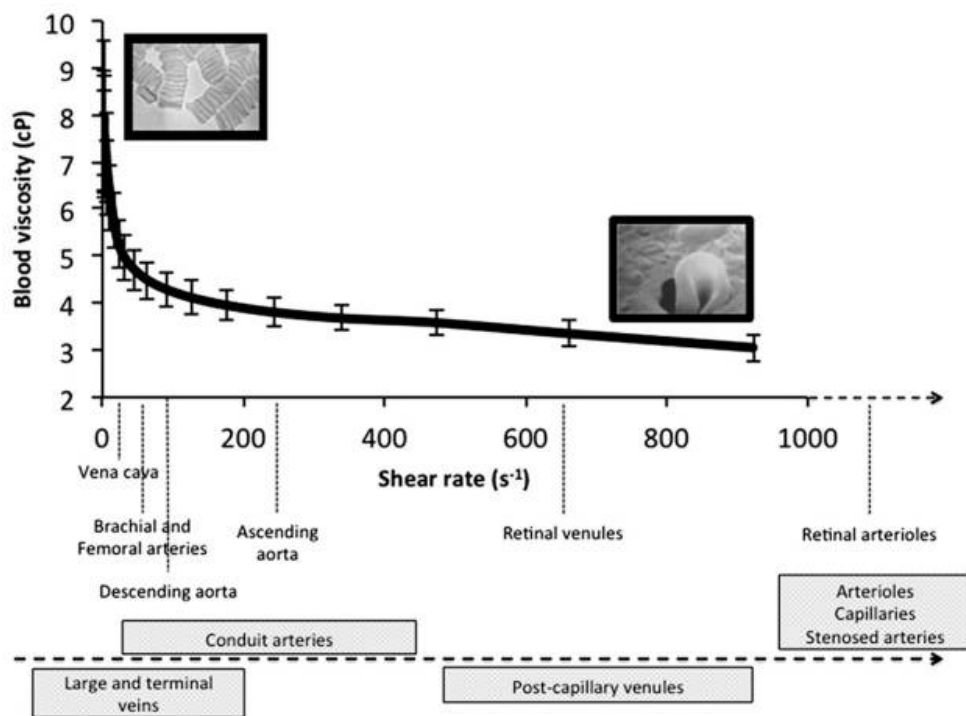
<sup>1</sup> Thixotrope : capacité d'un fluide à passer d'un état soluble à un état gel en fonction de l'agitation de ce dernier.



Aux taux de cisaillement élevés, supérieurs à  $80 \text{ sec}^{-1}$ , la viscosité du sang normal mesurée à  $37^\circ\text{C}$  est d'environ 4 à 5 cP et est relativement insensible aux augmentations supplémentaires du cisaillement. A des niveaux inférieurs à  $80 \text{ sec}^{-1}$  du taux de cisaillement, la viscosité augmente avec la diminution du cisaillement (*figure 10*).

De plus, en fonction des situations cette dernière subit des variations. Par exemple à l'exercice l'augmentation de la viscosité est favorable à la production du NO par les cellules endothéliales (Connes et al., 2008).

La viscosité sanguine totale ne peut pas être représentée par une unique valeur, elle dépend de plusieurs facteurs : l'hématocrite, la viscosité plasmatique, les propriétés des érythrocytes (déformabilité et leur agrégabilité).



**Figure 10** Variation de la viscosité sanguine dans l'arborescence vasculaire avec ces changements de vitesses de cisaillement (Connes et al., 2016).

(a) Hématocrite

La rhéologie sanguine est essentiellement dépendante du comportement des cellules sanguines les plus abondantes, les globules rouges (GRs), puisqu'il n'y a qu'un seul globule blanc pour 30 plaquettes et 600 globules rouges. Indépendamment de leurs propriétés dynamiques d'agrégabilité et de déformabilité des GRs, la viscosité sanguine dépendra du nombre et du volume de ces cellules en circulation. Il existe une relation linéaire entre l'augmentation de l'hématocrite et la viscosité sanguine de sorte que l'augmentation de l'hématocrite de 45 à 46% fera augmenter la viscosité de 4%. Son impact est d'autant plus prononcé à faible taux de cisaillement (veines) qu'à haut taux de cisaillement (artères).

(b) Viscosité plasmatique

Le plasma est également un élément à prendre en compte dans les variations de viscosité sanguine. Le plasma est un liquide non newtonien, sa viscosité ne variant pas avec le taux de cisaillement. Sa viscosité est comprise entre 1.10 et 1.35 cP à 37 °C dans des conditions normales. La viscosité plasmatique peut varier en fonction de la concentration de certaines protéines dans le volume plasmatique telles que le fibrinogène, les  $\alpha$ 1-globulines, les  $\alpha$ 2-globulines, les  $\beta$ -globulines et les  $\gamma$ -globulines. Certains états pathologiques s'accompagnent d'une réponse inflammatoire (aiguë ou chronique) qui est marquée par la surexpression de ces molécules faisant ainsi varier la viscosité plasmatique.

(c) Propriétés des GRs

***La déformabilité érythrocytaire***

La structure unique des GRs (Chap-1-B) hautement déformables leur confère des qualités exceptionnelles pour circuler au travers de l'arbre vasculaire, puisque leur diamètre excède celui des capillaires. L'écoulement sanguin et la viscosité sanguine sont majoritairement dépendants de leur comportement.

Ainsi lorsqu'elles subissent d'importantes forces de cisaillement ces cellules se déforment passivement pour circuler via leurs propriétés viscoélastiques. La déformabilité passive dépend de deux grandes qualités : viscosité intracellulaire (taux d'hémoglobine) et les propriétés viscoélastiques de leur membrane.

La bicouche phospholipidique qui compose la membrane de ces cellules assure à la fois leur stabilité mais aussi leurs mouvements.

C'est grâce à leurs nombreuses protéines qui les composent. Le déséquilibre membranaire entraîne une moindre déformabilité des GRs. La perturbation de l'organisation de ces protéines est influencée par des phénomènes intracellulaires. Une concentration élevée en calcium ou une augmentation d'espèces réactives à l'oxygène contribue au déséquilibre de la membrane et par conséquent entraîne une plus grande rigidité. Qui plus est, le globule rouge mature étant anucléé, sa viscosité intracellulaire sera dépendante de la concentration en hémoglobine (molécule majoritaire dans le GR), et de son rapport surface/volume. Une déformabilité altérée des GR limite l'orientation des cellules dans l'écoulement et augmente donc la viscosité du sang.

### ***Agrégation érythrocytaire***

La capacité à former des petits empilements semblables à une pile de pièces de monnaie peut contribuer fortement à l'augmentation de la viscosité sanguine. Le phénomène d'agrégation érythrocytaire est dépendant des taux de cisaillement, lorsque que celui-ci est faible les cellules s'agglutinent plus facilement à l'inverse elles se dispersent (Baskurt & Meiselman, 2003). Ainsi au niveau de la microcirculation les taux de cisaillement étant plus faibles, les cellules auront tendance à s'agréger par exemple au niveau des veines ou des bifurcations. Cependant, bien que le taux de cisaillement soit relativement bas dans les capillaires les agrégats se forment difficilement car leur diamètre étant inférieur à celui des érythrocytes, ils sont obligés de se faufiler pour traverser. De plus, l'espace étant réduit le taux d'hématocrite est faible. Néanmoins, il peut dans certains cas se produire un environnement propice (Chien & Sung, 1987). La formation d'agrégats dépendra de la nature des protéines plasmatiques (fibrinogène) et macromolécules (Dextran). Dans les états pathologiques où la concentration de fibrinogène augmente, le taux d'agrégat est également élevé (lors d'une infection par exemple).

### **(2) Autres influenceurs**

Les globules blancs font également varier la viscosité sanguine. Au sein de la macrocirculation ces cellules n'ont que très peu d'effets hors des états pathologiques, car elles se retrouvent en faible concentration à l'état physiologique. En revanche au niveau de la microcirculation l'espace étant relativement restreint la moindre cellule compte et peut influencer les résistances (Baskurt et al., 2007). Leur augmentation favorise l'agrégation (Eppihimer & Lipowsky, 1996). Ainsi elles offrent plus de résistance à l'écoulement et peuvent sérieusement entraver la microcirculation (Pearson & Lipowsky, 2004).

## 2. Régulation de la vasomotricité

Le muscle lisse de tous les vaisseaux exceptés les capillaires, présentent une certaine tension appelée « tonus ». Le changement de ce tonus musculaire vasculaire, entraîne des modifications du calibre des vaisseaux sanguins agissant par conséquent sur les résistances vasculaires. Les CMLVs augmentent les résistances en se contractant (vasoconstriction) et inversement en se relâchant (vasodilatation).

L'un des cinq rôles essentiels de l'endothélium est de réguler ce tonus vasculaire en interagissant avec les CMLVs. Les cellules endothéliales (CEs) jouent un rôle d'intégrateur d'informations et les CMLVs celui d'effecteur. Le tonus vasculaire est contrôlé par plusieurs facteurs qui interagissent entre eux, on peut les décliner en deux niveaux distincts :

1. Contrôle extrinsèque ou systémique réalisé par le système nerveux autonome et les hormones circulantes (catécholamines, le système rénine-angiotensine-aldostérone).
2. Contrôle intrinsèque ou local réalisé par la réponse CMLVs à des stimuli thermiques, chimiques et mécaniques.

### *a) Régulation nerveuse autonome*

Le cœur et les vaisseaux reçoivent des neurofibres autonomes (sympathique et parasympathique) en tant qu'organes effecteurs. Les artères reçoivent une innervation sympathique dominante au niveau des artères de résistances pour assurer une tension constante étant des vaisseaux de bas débit. L'adrénaline et la noradrénaline libérées par ces neurofibres autonomes vont induire une action différente selon le type de récepteurs prédominants.

On distingue :

- Les récepteurs  $\alpha$ -adrénergiques ( $\alpha$ -1 et 2) vont induire une vasoconstriction des CMLVs.
- Les récepteurs  $\beta$ -adrénergiques ( $\beta$ -1 et 2) vont induire une relaxation des CMLVs.

Les artères de résistance ont une abondance des récepteurs  $\alpha$ 1-adrénergiques au niveau des CMLVs qui servent à maintenir une certaine tension. Dans les veines, on retrouve une prédominance de récepteurs  $\alpha$ -2, pour faciliter le retour veineux. Au niveau des territoires splanchniques, coronaires et musculaires striés squelettiques on retrouvera essentiellement des récepteurs  $\beta$ -1 et  $\beta$ -2.

### *b) Régulation nerveuse sensorielle : microcirculation cutanée*

Il existe également des fibres nerveuses non adrénériques et non cholinériques capables de sécréter des substances vasoactives. Dans la microcirculation cutanée, les artéριοles dermiques sont innervées par des fibres nerveuses sensorielles fortement, moyennement et faiblement myélinisées. On note également la présence de fibres C amyélinisées (environ 45 %) qui réagissent aux stimulations thermiques, chimiques et mécaniques (Roosterman et al., 2006). On y trouvera également une abondance de récepteurs  $\alpha$ 1-adrénériques,  $\alpha$ 2-adrénériques et des récepteurs bêta 2-cholinériques au niveau des régions glabres (nez, lèvres, ongles, paumes des mains).

### *c) Régulation endothéliale*

L'endothélium est capable de synthétiser et de libérer des substances vasoactives en réponse à des stimuli, aboutissant à la relaxation ou à la contraction des CMLVs. On distingue celles qui induisent une vasoconstriction on parle d'*endothelium-derived contracting factors* (EDCF) : l'endothéline-1 (ET-1), angiotensine II (Ang II), le thromboxane A2 (TXA2), et l'anion superoxyde) de celles qui favorisent la vasorelaxation qualifiée d'*endothelium-derived relaxing factors* (EDRF) : les prostaglandines (PGI2), le monoxyde d'azote (NO) et facteur hyperpolarisant de l'endothélium (EDHF). Ces substances assurent l'équilibre du tonus vasculaire pour que l'écoulement sanguin soit toujours en adéquation avec la demande métabolique des cellules. Elles ont également un rôle majeur dans la régulation de l'adhérence leucocytaire, la prolifération cellulaire, et l'agrégation et l'adhérence des plaquettes (Félétou & Vanhoutte, 2009)(figure 11).

***Dans le cadre de ce travail de thèse nous avons focalisé l'attention sur le facteur le mieux décrit à savoir le NO***

a. Monoxyde d'azote : NO

i. Généralités

L'oxyde nitrique (NO) ou monoxyde d'azote est une molécule ou radical libre composée d'un atome d'oxygène et d'un atome d'azote. Sa solubilité dans l'eau est comparable à celle de l'oxygène et du dioxyde de carbone, sa charge nulle fait de lui un gaz hautement diffusible au travers des membranes cellulaires. Ce qui vient compenser son action limitée par sa courte demie-vie d'environ 10 sec.

Sa production endogène en tant que médiateur majeur relaxant dérivé de l'endothélium a été mise en évidence pour la première fois par Furchgott et Ignarro (Furchgott & Zawadzki, 1980; Ignarro et al., 1987). En 1998 ils reçoivent le prix Nobel de médecine et de physiologie pour avoir mis en évidence le rôle de cette molécule dans la régulation du tonus vasculaire par la relaxation des cellules musculaires lisses vasculaires (CMLVs). Depuis sa découverte de nombreuses études ont confirmé le rôle primordial du NO dans la régulation physiologique du système cardiovasculaire, sa biodisponibilité est un facteur prédictif de l'atteinte vasculaire.

ii. Source NOS

Le NO est généralement synthétisé par trois isoenzymes de l'oxyde nitrique synthase (NOS) - neuronale oxyde nitrique synthase (nNOS), inductible oxyde nitrique synthase (iNOS) et l'endothéliale oxyde nitrique synthase (eNOS) (Förstermann et al., 1994). La production de NO sera induite par la L-arginine qui sera catalysée par les NOS synthase en N-hydroxyarginine puis en L-citrulline.

La production de NO via cette voie sera dépendante de cofacteurs tels que : la tétrahydrobioptérine (BH 4), la flavine adénine dinucléotide, la flavine mononucléotide, la calmoduline et le fer protoporphyrine IX. La neuronale oxyde nitrique synthase (nNOS) se retrouve au niveau du système nerveux central et périphérique, l'inductible oxyde nitrique synthase (iNOS) est l'isoforme non dépendant de la concentration en calcium contrairement nNOS et eNOS. L'endothéliale oxyde nitrique synthase (eNOS) est la forme la plus abondante au niveau de l'endothélium.

iii.Métabolisme du NO et vasorelaxation

Le NO est une molécule libérée par les cellules par la eNOS, l'activation de cette dernière s'opère par de multiples voies dépendantes ou non de l'élévation du calcium cytosolique, par action directe induite par les forces de cisaillements ou indirecte par des agonistes (Féléto et al., 2012). L'augmentation du calcium par le réticulum endoplasmique favorise la liaison du complexe calmoduline-calcium, la calmoduline qui possède un site de liaison à la eNOS permet de l'activer en présence de NADPH pour stimuler la production de NO en transformant la L-arginine en L-citrulline et en NO. Les CEs possèdent de très nombreux médiateurs tels que la substance P, l'histamine, bradykinines, acétylcholine ou encore des hormones comme l'insuline qui agissent une fois couplés à leurs récepteurs sur la concentration de calcium intracellulaire et la production de NO.

Le véritable stimulus physiologique de la production de NO reste l'étirement par les forces de cisaillements (*shear stress* en anglais) induit par les composés en circulation contre la paroi de l'endothélium. Ces forces tangentielles via les protéines kinases A (PKA) et protéines kinase B (Akt) vont phosphoryler l'eNOS au site Ser1179 et induire indépendamment de la variation de calcium la production de NO (Boo et al., 2002).

Le NO dérivé de l'endothélium est le facteur majeur de la vasodilatation, une fois produit il se diffuse rapidement au niveau des CMLVs et induit leur relaxation. En activant la formation de l'acide guanosine monophosphate cyclique (GMPs) par la stimulation de guanylyl cyclase soluble (GCs) qui convertit l'acide guanosine triphosphates (GTP) en GMP. L'augmentation GMPs interagit avec les protéines kinases G et A qui favorisent la recapture des ions calcium intracellulaire, par l'ouverture des canaux potassiques activés ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase) ce qui provoque le relargage de calcium hors de la cellule provoquant la relaxation des CMLVs.

La diminution du calcium cytosolique par l'augmentation des GMPs provoque également la relaxation des CMLVs en inhibant la liaison des chaînes légères de myosines en réduisant leur sensibilité au calcium.

Les canaux ioniques agissent soit directement par les contraintes de cisaillement via canal vanilloïde potentiel de récepteurs transitoires 4 ou par l'élévation du taux de calcium intracellulaire. Les TRPV4 agissent en permettant l'entrée du calcium extracellulaire.

Lorsque les acteurs de ce fonctionnement sont altérés apparaissent des dysfonctionnements vasculaires aboutissant aux maladies cardiovasculaire connues. Les vaisseaux sanguins doivent être en mesure de s'adapter aux demandes des organes en fonction du challenge physico-chimique : variations de température, pH, neurosignaux, forces mécaniques etc.

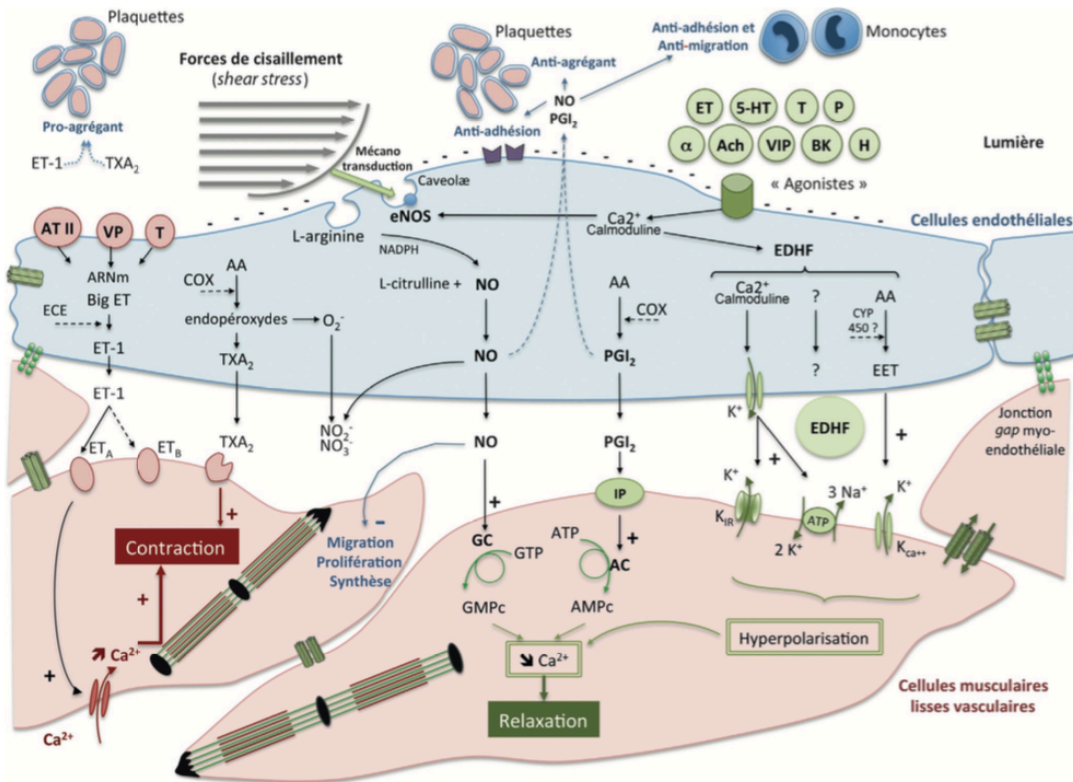
#### b. Forces de cisaillement et mécanotransduction

Les forces de cisaillements désignent les forces tangentielles provoquées par la friction de la colonne sanguine contre la surface endothéliale. Le frottement direct contre les CE, a le pouvoir de moduler les propriétés de ces dernières notamment en libérant du NO grâce au phénomène de mécanotransduction. Les CE possèdent au niveau de leur membrane plasmique de nombreux mécanorécepteurs capables de transformer ces forces mécaniques en activité biochimique permettant de stimuler la eNOS ( Davies, 2009 ; Zhou et al., 2014).

Des études *in vitro* ont permis d'identifier un bon nombre de facteurs activateurs du phénomène de mécanotransduction : les intégrines, les récepteurs tyrosine kinase VEGF-2, les protéines G, les canaux ioniques. Des structures membranaires comme les cavéoles qui contiennent en leur sein de la eNOS facilement mobilisable (*figure-11*).

Les forces de cisaillements varient proportionnellement à la vitesse du sang (cf lois physiques plus haut), par exemple lors d'un exercice physique l'augmentation de l'afflux sanguin va stimuler les voies du NO qui permettra à son tour de générer une relaxation des CMLVs pour permettre au vaisseau d'accepter cette augmentation de flux. Ainsi les variations physiologiques des contraintes de cisaillement régulent les changements aigus du diamètre des vaisseaux, de plus lorsque ces variations se répètent elles induisent un changement constant, voire même un remodelage vasculaire. Le shear stress contribue au maintien de l'homéostasie vasculaire en limitant l'adhérence cellulaire et l'agrégation plaquettaires en stimulant le NO. *A contrario*, on décrit une relation inverse entre la diminution du shear stress et le processus d'athérogenèse.





**Figure 11** Voies de signalisations qui mènent à la stimulation du NO et de la vasorelaxation (Bura-Rivière et al., 2016) AA : acide arachidonique ; AC : adénylate cyclase ; Ach : acétylcholine ; ATII : angiotensine II ; AMPc : adénosine monophosphate cyclique ; ARNm : acide ribonucléique messager ; ATP : adénosine-5'-triphosphate ; BK : bradykinine ; Ca<sup>2+</sup> : calcium libre ; COX : Cyclooxygénase ; CYP450 : cytochrome 450 ; ECE : enzyme de conversion de l'endothéline ; EET : acides époxyeicosatriénoïques ; EDHF : Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor ; ET-1 : endothéline 1 ; ET<sub>A</sub> et ET<sub>B</sub> : récepteurs de l'endothéline de type A et de type B ; GC : guanylate cyclase ; GMPc : guanosine monophosphate cyclique ; GTP : guanosine-triphosphate ; H : histamine ; 5-HT : hydroxytryptophane, précurseur de la sérotonine ; IP : récepteur des eNOS : NO synthase endothéliale ; NO<sub>2</sub><sup>-</sup> : nitrite ; NO<sub>3</sub><sup>-</sup> : nitrate ; O<sub>2</sub><sup>-</sup> : Thromboxane A<sub>2</sub> ; VIP : peptide intestinal vasoactif ; VP : vasopressine. Prostacyclines ; K<sup>+</sup> : potassium ; Na<sup>+</sup> : sodium ; NO : monoxyde d'azote ; anion superoxyde ; P : purines ; PGI<sub>2</sub> : prostacycline ; T : thrombine ; TXA<sub>2</sub> :

### c. Microparticules

Il existe d'autres médiateurs qui sont en mesure de solliciter le couple CEs-CMLVs parmi ceux qui ont été identifiés récemment on note les microparticules (MPs) (Said & Doctor, 2017). Faisant partie de la famille des microvésicules extracellulaires, qui désigne un ensemble de diverses particules délimitées par une bicouche phospholipidique détectable dans plusieurs fluides biologiques (Colombo et al., 2014). Les MPs se forment à la suite de processus physiologiques comme l'apoptose ou de l'activation cellulaire, où elles dérivent de la membrane cytoplasmique des cellules dont elles sont originaires (Morel et al., 2011). Les MPs issues des cellules circulantes (érythrocytes, plaquettes, leucocytes) et des CEs elles-mêmes, sont de véritables messagers cellulaires. Elles interagissent avec les cellules cibles soit par l'activation de leurs récepteurs ou par transfert direct de composants bioactifs qu'elles renferment tels que les protéines, les lipides et les acides nucléiques issues de leurs cellules mères.

On leur attribue des propriétés pro-coagulante, pro-inflammatoire induisant la production de cytokines et de chimiokines (Burger et al., 2013).

A l'état physiologique, leur concentration est relativement faible et leur action est nécessaire à la croissance cellulaire, à la différenciation et à l'apoptose. Dans ce sens des concentrations élevées ont été corrélées au dysfonctionnement endothélial dans certains états pathologiques comme l'obésité (Durcin et al., 2017), le diabète et même dans certaines maladies génétiques telle que la drépanocytose. Des niveaux élevés ont été associés à la gravité des crises vaso-occlusives. Elles participent activement à la physiopathologie de la drépanocytose (Garnier et al., 2020 ; Nader et al., 2021). Elles ont été reconnues comme de véritables biomarqueurs d'activation cellulaire et associées au dysfonctionnement endothélial (Boulanger et al., 2006). Dans le cas de l'exercice, la concentration de MPs augmente en fonction de l'intensité et de la durée de ce dernier (Han et al., 2021). L'exercice intense aigu est une source d'augmentation des MPs induite par l'hypoxie, l'augmentation des contraintes de cisaillement et le stress oxydatif (Chen et al., 2013). La répétition du stress régulier de l'exercice a pour effet de diminuer l'état pro-inflammatoire et l'activation leucocytaire et plaquettaire induisant des taux moins élevés de MPs issues de ces cellules (Han et al., 2021; Kim et al., 2015).

## Régulation vasculaire et défis thermiques : microcirculation cutanée

Le débit sanguin cutané peut considérablement varier en fonction des défis thermiques exogènes (environnementaux) et endogènes (pathologies, l'exercice physique) qui se présentent (Johnson et al., 2014 ; Johnson & Proppe, 2011). Au repos dans des conditions normothermiques le débit sanguin cutané est d'environ  $500 \text{ ml min}^{-1}$ . Lors d'un refroidissement corporel ou local augmentation de l'activité vasoconstrictrice réduit le débit sanguin cutané d'une valeur proche de zéro. *A contrario*, durant le réchauffement corporel ou local les mécanismes vasodilatateurs sont capables de faire augmenter le débit sanguin cutané jusqu'à atteindre 6 à 8 l/min (Johnson et al., 2014; Rowell, 1974).

### *a) Refroidissement*

#### 1. Reflexe systémique

Le contrôle tonique des artéριοles dermiques est assuré par la branche sympathique noradrénergique. Au repos dans des conditions normothermiques le tonus basal des artéριοles est maintenu par une légère activité sympathique noradrénergique, ce mécanisme est présent sur l'ensemble de la peau (glabre et non glabre). Le blocage de l'activité de ces nerfs (sympathectomie, bretylium, antagonistes) s'accompagne de l'augmentation du flux. L'utilisation de ces méthodes dans les régions glabres a permis de constater qu'elles étaient entièrement sous le contrôle des nerfs sympathiques noradrénergiques (Duff, 1955). L'augmentation du flux observé au niveau de la main ou du doigt est semblable à celle observée durant le réchauffement du corps entier. Un constat similaire a été retrouvé au niveau des lèvres suggérant que ces résultats sont applicables à l'ensemble des surfaces glabres. Au niveau de la peau velue Stephens et al. (Stephens et al., 2001) ont rapporté qu'un blocage postsynaptique complet de la vasoconstriction médiée par la noradrénaline n'inhibe pas complètement la réponse vasoconstrictrice réflexe (Hodges et al., 2009).

## 2. Local

L'application de froid sur une zone de la peau produit une vasoconstriction qui engage des mécanismes locaux indépendants de l'activité réflexe sympathique efférente (Ekenvall et al., 1988; Pergola et al., 1994). La vasoconstriction observée est majoritairement médiée par la libération de la noradrénaline au niveau des récepteurs alpha-2-adrénergiques (Ekenvall et al., 1988; Johnson et al., 2005) et par Rho kinase (Thompson-Torgerson et al., 2008). L'inhibition du NO a également été proposée comme participant à la constriction passive (Hodges et al., 2006).

### b) *Réchauffement*

#### 1. Reflexe systémique

Le système vasodilatateur est plus complexe, l'exposition à la chaleur induit une augmentation du flux cutané par le simple retrait du tonus vasoconstricteur sur l'ensemble de la peau. L'amplitude de la réponse dépendra de la température environnementale de départ, ainsi si les conditions climatiques sont plutôt froides le retrait sera d'autant plus marqué. En revanche, dans des conditions plus confortables on note une très légère différence quasi inexistante puisque l'activité vasoconstrictrice sera déjà inhibée (Edholm et al., 1957; Fox & Edholm, 1963). Il existe également un mécanisme de vasodilatation active propre à la peau velue. Ce mécanisme permet d'augmenter le flux sanguin via la branche cholinergique. à partir d'un certain seuil de température interne et cutanée.

Dans des conditions optimales, la peau est refroidie par évaporation de la sueur, et le gradient thermique au niveau de la peau permet à la chaleur de se dissiper du sang vers la peau et vers l'environnement. Le sang plus froid est ensuite transféré vers le noyau où il minimise les augmentations de température centrale qui se produisent pendant l'exercice et/ou l'exposition à la chaleur ambiante. La peau non glabre « velue » quant à elle est innervée par deux branches du système nerveux sympathiques : les nerfs vasoconstricteurs noradrénergiques et les nerfs vasodilatateurs cholinergiques, en plus des effets locaux de la température (Edholm et al., 1957b; Roddie et al., 1957).

## 2. Local

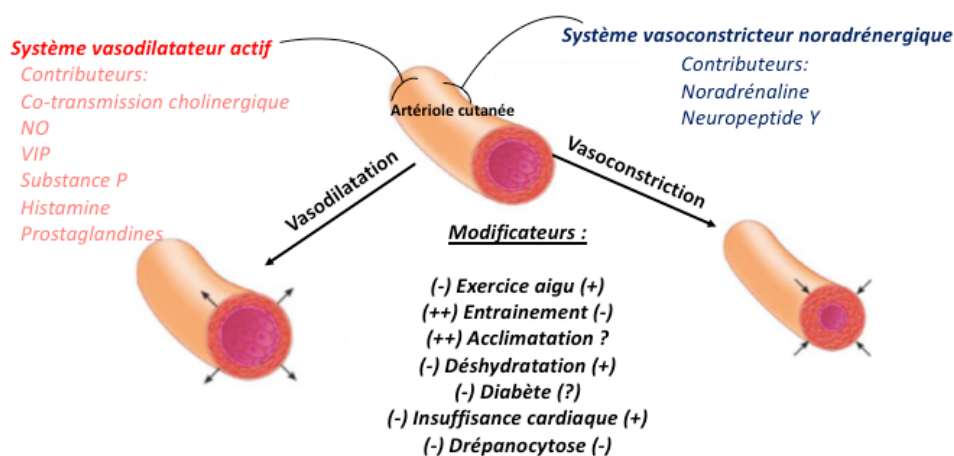
Le réchauffement local d'une zone de la peau provoque une vasodilatation dépendante du degré et de la vitesse du stimulus (Barcroft & Edholm, 1943; Choi et al., 2014 ; Hodges et al., 2009; Minson et al., 2001). L'augmentation rapide est préconisée pour observer la réponse biphasique. Cependant, lorsque le chauffage est lent et progressif cette réponse biphasique n'est pas observée. La réponse au chauffage local de la peau a été décrite comme étant une réponse biphasique médiée par deux voies (Kellogg et al., 1999; Minson et al., 2001).

- 1) **Phase 1, le pic** : consiste à l'augmentation rapide (dans les 5 min) initiale du flux sanguin cutané et est médiée par un réflexe axonal sensoriel.

Après un bref nadir,

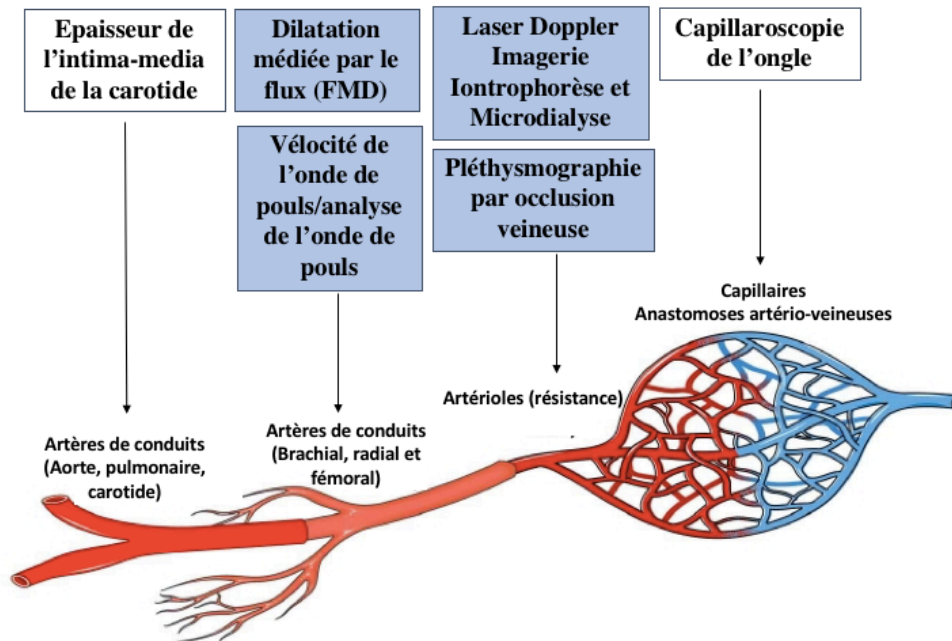
- 2) **Phase 2, le plateau** : consiste à l'augmentation plus lente jusqu'à un plateau stable du flux sanguin cutané qui est principalement dépendante du NO.

On pense que la phase réflexe axonal initiale de la réponse de chauffage local est médiée par l'activation induite par la température des neurones afférents à la fibre C qui libèrent la substance P et le CGRP (Wong & Minson, 2011). Le NO ne contribue que modestement à l'augmentation initiale du débit sanguin cutané avec un chauffage local, mais intervient à environ 70 % de la phase secondaire (Kellogg et al., 1999). La portion indépendante du NO a été attribuée à la famille des acides eicosatriénoïques des facteurs hyperpolarisants dérivés de l'endothélium (EDHF) (Brunt & Minson, 2012a).



**Figure 12** Contributeurs majeurs neurogéniques du tonus vasomoteur des artérioles cutanées (Charkoudian, 2010)

## B. Exploration structurelle et fonctionnelle vasculaire



**Figure 13** Vision d'ensemble sur les techniques les plus utilisées pour mesurer la fonction et la structure macro et microvasculaire : en bleu ces techniques permettent de mesurer une fonction et en blanc une structure, schéma modifié de Sandoo et al., 2010.

Chez l'homme, l'accessibilité de la microcirculation cutanée en fait le site privilégié d'explorations fonctionnelles et structurelles non invasives (Cracowski & Roustit, 2020). Plusieurs états pathologiques ont été associés au dysfonctionnement microvasculaire cutané (Coulon et al., 2012; Cracowski & Roustit, 2020; Jung et al., 2013; Khan et al., 2008). En partant du principe que le dysfonctionnement microvasculaire est un processus systémique, qui survient simultanément dans plusieurs microstructures de l'organisme (Abularrage et al., 2005) la microcirculation peut être utilisée comme modèle généralisable bien que cela soit largement discuté (on note pas moins de 19 commentaires suite à cette proposition Holowatz et al., 2008). Cependant, il n'en demeure pas moins vrai qu'elle fournit des indices de santé cardiovasculaires pertinents, qui sont utilisés comme marqueurs de substitution de la fonction microvasculaire systémique dans diverses maladies. Aujourd'hui, il existe de multiples méthodes de mesure non invasives reposant sur des principes différents, allant de l'exploration de sa structure à ses fonctionnalités (Low et al., 2020; Neubauer-Geryk, 2019a, 2019b). Leur combinaison est une nécessité pour prédire au mieux le risque vasculaire.

Dans cette partie les outils les plus utilisés pour évaluer la fonction microvasculaire seront décrits brièvement, l'ensemble des techniques actuelles seront résumées dans le tableau 1.

## 1. Techniques non invasives d'exploration de la fonction microvasculaire

### *a) Pléthysmographie d'occlusion veineuse*

La pléthysmographie à occlusion veineuse est une technique permettant de mesurer le débit sanguin chez l'homme. Cette technique a été décrite pour la première fois par Hewlett & van Zwaluwenburg (Hewlett & Van zwaluwenburg, 1909).

Cette méthode consiste à bloquer le retour veineux en appliquant une pression (40 mmHg) via un brassard placé autour de la partie proximale de la zone d'intérêt. Elle est souvent utilisée au niveau des extrémités : l'avant-bras, le mollet, la main ou le pied.

La pression appliquée par le brassard est suffisante pour bloquer le drainage veineux mais insuffisant pour l'afflux artériel, de sorte que le volume veineux augmente au rythme de l'afflux artériel dans la zone d'intérêt (Wilkins & Bradley, 1946). Lorsque cette mesure est réalisée sur l'avant-bras ou le mollet deux brassards sont placés pour isoler la zone d'intérêt ; par exemple, si l'on bloque au niveau du bras le volume de l'avant-bras est enregistré à mesure du temps d'occlusion. La mesure du changement de volume des membres via des enregistrements de déplacement d'eau ou de changement de circonférence à partir de la jauge de contrainte est ensuite utilisée pour calculer le débit sanguin à l'extrémité.

La pléthysmographie d'occlusion veineuse a été largement utilisée pour étudier la physiologie vasculaire humaine *in vivo*, et est à son maximum lorsqu'il est associé à une administration intra-artérielle de médicaments. Elle offre une technique de mesure peu coûteuse, simple et reproductible (Silva et al., 2009; Thijssen et al., 2005).

En revanche, on ne peut distinguer le débit sanguin cutané du débit musculaire (Gliemann et al., 2017).



### *b) Débitmétrie Laser Doppler*

Le LDF fait partie des techniques non-invasives les plus utilisées, cette technique repose sur l'effet doppler. Le dispositif diffuse un faisceau lumineux avec une longueur d'onde précise qui est réfléchi par les cellules circulantes du sang. Le LDF se compose d'une fibre optique d'émission et d'une fibre optique de réception. L'amplitude et la distribution de fréquence de ces variations de longueurs d'ondes sont liées au nombre et à la vitesse des globules rouges. Cette technique fournit une seule valeur de perfusion exprimée en unités arbitraires (Stern, 1975). La valeur de perfusion est un indice sur le débit sanguin cutané indépendamment du flux sanguin musculaire plus profond. Le faisceau de lumière pénètre à environ 1 mm<sup>3</sup> sous la peau, mais dépendra du faisceau lumineux choisi (le rouge environ 1 à 2 mm et 0,15 mm pour la lumière verte) (Briers, 2001). Sa fréquence d'échantillonnage élevée (32Hz), sa simplicité d'utilisation représentent des atouts incontestables.

En fonction du mode d'analyse choisi il est possible de traiter les données sur une base temporelle c'est-à-dire exprimées en unité de perfusion arbitraire. Les valeurs sont moyennées en ciblant des périodes d'intérêts. Ces données peuvent être également filtrées et transformées pour une analyse spectrale.

En revanche, sa surface d'enregistrement peu étendue et sa faible reproductibilité sont les faiblesses de cet outil (Roustit et al., 2010).

### ***Flowmotion & vasomotion***

Au niveau de la microcirculation il existe des oscillations périodiques induites par des contractions/relaxations spontanées des cellules musculaires lisses vasculaires. Ces changements lumineux rythmiques sont appelés vasomotion, et sont régulés par des mécanismes centraux (respiration, rythme cardiaque) et locaux (endothéliaux, myogéniques et neurogéniques). Le flux sanguin est contrôlé par l'effet combiné de ces oscillations périodiques d'origine intrinsèque et extrinsèque, entraînant un tonus vasculaire spécifique des cellules musculaires lisses (Intaglietta, 1991; Intaglietta et al., 1989).

Le vasomotion fait partie d'un phénomène plus large appelé flowmotion qui est à l'origine des variations spontanées du flux sanguin. Le flowmotion est caractérisé par un large spectre de fréquences comprises entre 0.0095 Hz à 2 Hz, mesurable via la technique du LDF ou LSCI.



On distingue les oscillations périodiques de hautes fréquences, attribuable à l'activité cardiaque (environ 2 Hz), et la fréquence respiratoire (0.3 Hz) des oscillations de basses fréquences désignant la vasomotion. Les basses fréquences peuvent être subdivisées en 4 bandes régulées par des mécanismes de natures différents : neurogénique (0.04 Hz)(Söderström et al., 2003), myogénique (de 0.01 à 0.02 Hz)(Stefanovska et al., 1999), endothélium et non endothélium dépendant dans la gamme de 0.005- à 0.0095-Hz respectivement, (Kvandal et al., 2006, 2006 ; Kvernmo et al., 2003).

### ***Rôles éventuels***

Il été montré que l'activité était renforcée dans des conditions de stress hémodynamique et métabolique tels que l'exercice (Kvernmo et al., 2003b) ou certains états pathologiques (Rossi et al., 2008). Certains auteurs ont suggéré que la vasomotion était bénéfique à l'oxygénation tissulaire pour favoriser une distribution optimale, et cela est d'autant plus visible lorsqu'il y a un trouble de l'oxygénation. Par exemple, dans le cas de la drépanocytose où les altérations rhéologiques peuvent sévèrement compromettre la perfusion tissulaire, les oscillations sont plus importantes (Rodgers et al., 1984) en adéquation avec un flux sanguin retrouvé plus élevé à l'état basal (sans stimulation thermique, chimique ou mécanique). Certains auteurs ont proposé cette approche dans l'établissement primaire des troubles microcirculatoires cependant des zones d'ombres persistent.

## 2. Techniques d'évaluation de vasoréactivité

### *a) Iontophorèse*

L'iontophorèse est une technique basée sur la propagation d'agents thérapeutiques via un courant électrique continu ou alternatif de faible intensité. Elle permet d'introduire des agents pharmacologiques localement en évitant les répercussions systémiques afin d'éviter l'élimination du produit par la barrière gastro-intestinale (Kanikkannan, 2002). Couplée au technique de débitmétrie laser doppler ou au Speckle cette méthode permet d'observer la cinétique d'un médicament administré (Roustit & Cracowski, 2012). Son utilisation a permis de discriminer les voies de la régulation du flux sanguin, d'obtenir une meilleure efficacité thérapeutique ciblant des voies de signalisation moléculaire spécifiques. On note néanmoins quelques inconvénients notamment une moindre reproductibilité lorsque cette technique est

couplée avec le LDF. Ces techniques offrent des perspectives thérapeutiques incontestables en bloquant des voies précises.

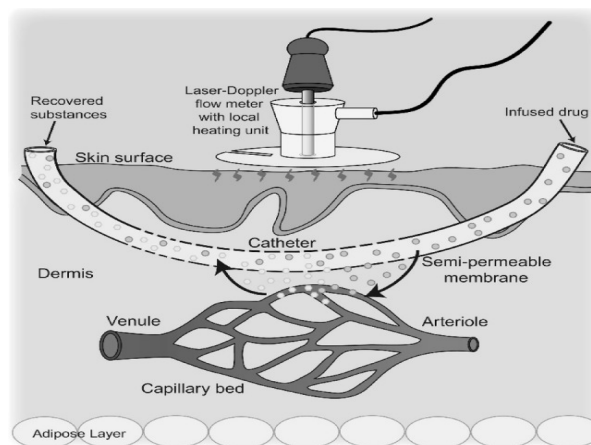
### b) *Microdialyse*

Cette technique se compose d'une membrane de cellulose semi-perméable placée au niveau du derme par une aiguille. Les pores de la membrane sont de tailles variables (30 à 100 kDa), permettant ainsi d'administrer un large éventail de molécules. C'est d'ailleurs en partie grâce à cette large gamme qu'elle sera utilisée au détriment de l'iontophorèse.

Cela permet 1) la pharmacodissection d'une variété de voies de signalisation impliquées dans le contrôle vasculaire cutané, 2) l'examen des stratégies d'intervention pharmacologique localement avant que l'utilisation systémique ne soit justifiée, et 3) la collecte de la solution d'effluent pour examiner la concentration de la molécule d'intérêt.

Comme l'iontophorèse, une fois couplée aux techniques de laser doppler elle offre des informations pertinentes sur les mécanismes microvasculaires (Cracowski et al., 2011).

Elle présente un point faible et pas des moindres dû à l'introduction de l'aiguille. L'insertion des fibres induit une sensation de chaleur avec une réponse vasodilatatrice pourrait biaiser la mesure. Afin d'y remédier un délai de 60 à 90 min est nécessaire pour atténuer les traumatismes. De plus, l'utilisation d'une poche de glace ainsi qu'un site témoin est nécessaire.



**Figure 14** Représentation schématique de la technique de microdialyse couplée à la technique de débitmétrie laser doppler avec chauffage local. On peut y distinguer le lit capillaire autrement dit le site d'action des substances administrées, la membrane de cellulose et le dialysat qu'elle comporte (Low et al., 2020).

*c) Hyperhémie réactive par occlusion*

Hyperhémie réactive désigne l'augmentation brutale du débit sanguin observée après une occlusion de 3 à 5 min par un brassard. L'occlusion crée une hypoxie tissulaire transitoire, stimulus très utilisé pour observer la réponse vasodilatatrice qui en résulte (Rosenberry & Nelson, 2020) .

*d) Hyperhémie thermique locale*

L'application d'un chauffage local de la peau à des températures inférieures au seuil de douleur (39, 40, 44 °C) induit une augmentation du flux sanguin (Choi et al., 2014; Minson, 2010). Cette méthode reproductible est très utilisée pour l'étude de la fonction microvasculaire. Les mécanismes de contrôle sont relativement bien décrits et permettent de déceler les éventuels dysfonctionnements à la fois nerveux et métaboliques liés aux voies du NO de manière totalement non invasive.

**Tableau 2** Récapitulatif des techniques les plus utilisées pour l'explorations fonctionnelles et structurelles vasculaires, réalisé à partir des sources suivantes : Cracowski & Roustit, 2020; Flammer et al., 2012; Johnson et al., 2014; Low et al., 2020; Neubauer-Geryk, 2019a;b ; Theodorakopoulou et al., 2020).

Techniques	Principe	Profondeur /surface de mesure	Lit vasculaires	Avantages	Inconvénients	Reproductibilité	Stimuli
<i>Pléthysmographie</i>	Modifications du débit sanguin de l'avant-bras		Micro	Méthode simple,	Résolution temporelle faible mesure toutes les 5 à 10 s Semi-invasive, long, pas de distinction des débits cutané et musculaire	+++	Mécanique
<i>Débitmétrie laser doppler</i>	« flux de GRs » effet doppler	0.5 à 1 mm	Micro (AR, capillaires, AVAs)	Simple, enregistrement en temps réel, non invasive	Superficielle, pas de valeurs absolues, surface de mesure réduite	---	Mécanique Chimique Thermique
<i>Laser doppler speckle</i>	Variations de contraste avec celles du flux sanguin « speckle pattern »	150–300 µm	Micro : capillaires, AVAs	Vaste surface de mesure, non invasive	Superficielle	+++	Mécanique Chimique Thermique
<i>Imagerie laser doppler</i>	Rétrodiffusion de la lumière et effet doppler (image 2D)	0.5 à 1 mm	Micro : AR	Résolution spatiale importante, non invasive	Superficielle	++	Mécanique Chimique Thermique
<i>Vasoréactivité coronarienne épocardique (QCA)</i>	Injections directes des substances vasoactives dans les coronaires		Macro : AC	Evaluation directe du lit vasculaire d'intérêt (gold standard pour évaluation des coronaires)	Hautement invasive, coûteuse,	+++	Chimique
<i>(tcpO<sub>2</sub>)/oxymétrie transcutanée</i>	Mesure de la pression en O <sub>2</sub>	0.5 à 1 mm	Micro	Méthode simple et non invasive	Nécessite une calibration, coûteuse	--	Mécanique Chimique Thermique

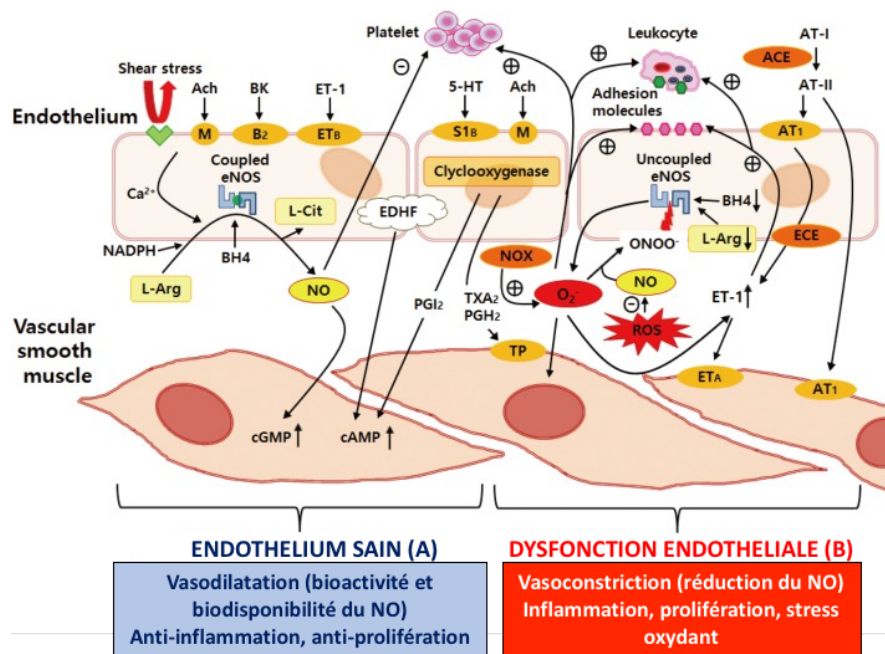
	(L'électrode polarographique est chauffée à 45°C pour induire une hyperhémie locale)						
<b>Thermographie</b>	Visualisation du flux de la chaleur (flux sanguin = flux T°)	300 um Cartographie des zones mesurées		Pas besoin de contact, simple, non invasive, sert pour le diagnostic précoce de la neuropathie diabétique et la maladie de Raynaud	Pas de relation directe et simple entre le flux et la T°, coût des équipements, superficielle	?	?
<b>Optical coherence tomography (OCT)</b>	Interférométrie de la lumière avec les tissus	1 à 2 mm Images 3D 5mm x 5mm		Indices : vitesse, débit, recrutement vasculaire Images 3D	Faible profondeur distingue pas les microvaisseaux	?	
<b>EndoPAT</b>	Tonométrie artérielle périphérique (changements des volumes)		AR Micro	Simple, indices facilement utilisables par les cliniciens	Indices limités	++	Mécanique Chimique
<b>Capillaroscopie</b>	Evaluation in vivo de la morphologie des capillaires	Grossissement 20 à 200	Micro Ongle	Examen en temps réel, visualisation directe du recrutement capillaire et des GRs lors d'une stimulation	Peu profond, zones restreintes	+++	
<b>Dilatation à médiation par le flux FMD</b>	Imagerie échographique	Profond	AC Macro	Non invasive, indicateur fiable de la biodisponibilité du NO, gold standard pour l'évaluation des artères de conduits, indices sur la fonction et la structure des vaisseaux mesurés, peu coûteux	Standardisation difficile, nécessite des examinateurs expérimentés, application difficile	---	Mécanique Chimique

AC : artères de conduit ; AR : artères de résistances ; (+++) : bonne reproductibilité (---) mauvaise reproductibilité,

## C. Dysfonctionnement endothélial

Le rôle physiologique de la macro et microcirculation est de faire correspondre la demande métabolique des cellules en régulant les résistances vasculaires.

Le dysfonctionnement vasculaire ou endothélial désigne l'ensemble de troubles aboutissant à la réduction de la perfusion tissulaire. Il est caractérisé par l'altération des facteurs vasorelaxants dépendant de l'endothélium allant de leur simple réduction à leur inefficacité (Flammer et al., 2012). Généralement, on note une réduction de la biodisponibilité du monoxyde d'azote, qui représente d'ailleurs un marqueur clé de la dysfonction endothéliale (Cyr et al., 2020). Au-delà de son action dilatatrice, c'est un agent anti-thrombotique, anti-agrégant, il inhibe également l'adhérence des leucocytes et des plaquettes pour l'endothélium. Ainsi, réduction de sa biodisponibilité induit un état pro-inflammatoire et pro-coagulant (Viridis et al., 2019; Yu & Bennett, 2016). Plusieurs sources peuvent affecter la biodisponibilité du NO : réduction des précurseurs (L-Arginine), augmentation des prédateurs (EROs), ou encore inefficacité de son action (Gladwin, 2006).



**Figure 15** Endothélium sain (A) versus endothélium dysfonctionnel (B), la déplétion du NO par les espèces réactives à l'oxygène schéma adapté de (Park & Park, 2015)

## Stress oxydatif

### a) Généralités

*Le stress oxydatif se définit comme étant le déséquilibre entre les pro-oxydants et les antioxydants en faveur des premiers, ou encore lorsque la capacité anti-oxydante est altérée.*

En tant qu'organisme aérobie, l'être humain a besoin d'oxygène pour sa survie, bien qu'il puisse survivre quelques minutes sans sa présence, l'oxygène est un élément essentiel à la production d'énergie (sous forme d'ATP) utilisée par l'ensemble des cellules pour leur fonctionnement. Le mécanisme qui contribue à cette production est appelée phosphorylation oxydative qui se réalise via les chaînes de transporteurs d'électrons présentes au niveau de la membrane interne mitochondriale. La réduction de l'oxygène en eau ne se produisant pas parfaitement laisse échapper des radicaux libres ou espèces réactives à l'oxygène.

Ces espèces réactives à l'oxygène (ERO) font référence aux espèces chimiques qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche de valence (couche externe) ce qui leur confère une grande instabilité/réactivité (Halliwell & Gutteridge, 2015). Pour trouver une stabilité, ces espèces arracheront des électrons provenant d'autres sources (lipides, protéines et acides désoxyribonucléiques) par des réactions d'oxydation.

EROs : Cette appellation comprend aussi bien les espèces radicalaires que les non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) l'acide hypochloreux (HOCl) et l'ozone ( $O_3$ ) qui n'ont pas d'électrons libre sur leur couche externe.

Il existe également des radicaux libres formés secondairement, les EROs, les espèces réactives à l'azote (ERA) telles que : l'ion peroxydinitrite ( $ONOO^{\cdot}$ ), le dioxyde d'azote ( $N_2O^{\cdot-}$ ), le monoxyde d'azote ( $NO^{\cdot}$ ).

Sources endogènes/exogènes des EROs :

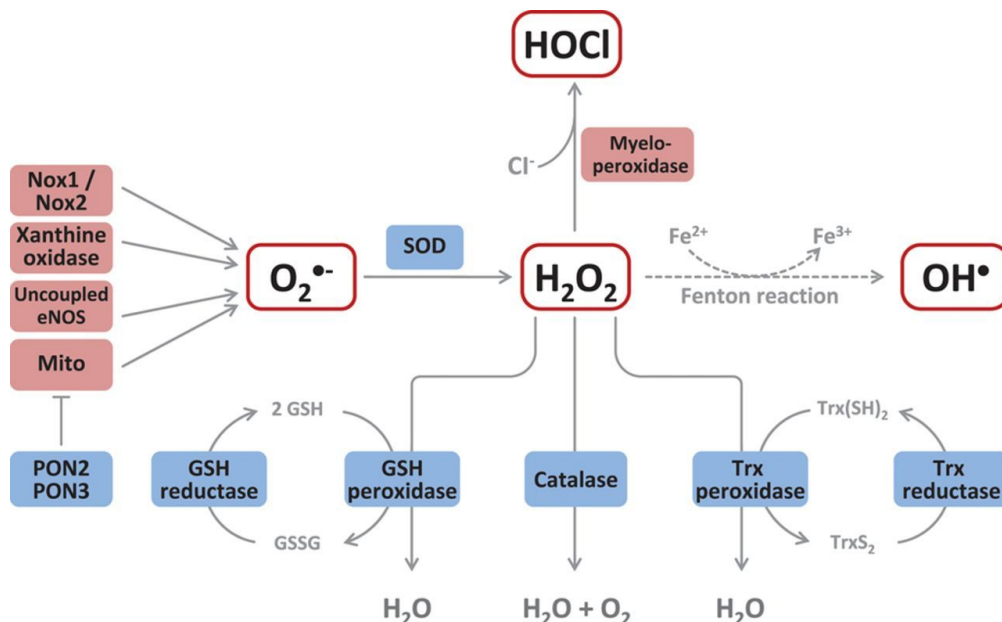
- Mitochondrie « petites centrales énergétiques », via la respiration
- Le réticulum endoplasmique via le cytochrome P450
- Les enzymes :
- Les peroxysomes via la bêta-oxydation
- Autres : phagocytose, inflammation, déficit immunitaire, phénomène d'ischémie-reperfusion, exercice physique, stress et fatigue

*b) Enjeux biologique et physiologiques des EROS :*

Autrefois, on pensait que la production de EROS provenait entièrement du métabolisme mitochondrial. Cependant, à mesure des découvertes il a été démontré que la production de EROs provient de plusieurs sources (peroxysomes) de plus, leur action a été reconnue comme étant favorable (Förstermann et al., 2017).

En dehors des états pathologiques, autrement dit dans des conditions physiologiques, les espèces réactives à l'oxygène sont indispensables à la vie cellulaire dans une certaine mesure. Elles agissent en tant qu'activateur/régulateur dans les voies de signalisations en régulant la croissance, l'apoptose et d'autres signaux. Elles interviennent dans la régulation de l'expression de gènes et la réponse immunitaire en phagocytant directement les agents pathogènes. Ces espèces assurent également l'homéostasie vasculaire : le remodelage, la croissance et la contractilité. Afin de maintenir un certain équilibre de ces espèces il existe un système de sécurité « défenses anti-oxydantes », capable d'évacuer les espèces. Bien qu'une quantité minimale contribue à la vie cellulaire. Une quantité excessive conduit à des lésions cellulaires irréversibles. C'est d'ailleurs dans ces cas précis que l'on parle de stress oxydatif.

Le stress oxydatif désigne alors le déséquilibre entre la production de EROs et les défenses anti-oxydantes en faveur des oxydants entraînant une perturbation de la signalisation et du contrôle redox et/ou des dommages moléculaires.



**Figure 16** Enzymes génératrices des EROs (en rose) et enzymes anti-oxydantes (en bleu) (Förstermann et al., 2017).



### c) Les antioxydants

L'omniprésence des EROs a conduit au développement d'un système de défense dans les organismes aérobies. Les molécules antioxydantes sont des substances qui contrecarrent l'excédent des EROs, on distingue les antioxydants enzymatiques : superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathion peroxydase (GPX) et oxyde nitrique (NO), des antioxydants non enzymatiques endogènes et exogènes : glutathion, caroténoïdes, acide ascorbique (vitamine C) et acide urique. Ces mécanismes de protection agissent soit en prévention contre la surproduction des radicaux ou encore dans la réparation des dommages cellulaires causés par ces radicaux (Ighodaro & Akinloye, 2018).

La première ligne de défense est assurée par trois enzymes clés : le superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase. Ces enzymes neutralisent rapidement les enzymes pro-oxydantes qui sont susceptibles de produire des EROs via des réactions de dismutations en les transformant en espèces inoffensives ( $H_2O_2$ , alcool et  $O_2$ ) (Ighodaro & Akinloye, 2018).

- Les superoxydes dismutases correspondent à la famille des métallo-enzymes, ces enzymes assurent l'élimination de l'anion superoxyde, soit la première espèce réactive à l'oxygène. Pour son action, elle a besoin d'oligo-éléments comme le cuivre et le zinc (Cu-ZnSOD cytoplasme) ou le manganèse (MnSOD dans la mitochondrie). Deux enzymes prennent le relais pour finaliser la neutralisation des EROs.
- La catalase est une hémoprotéine, homotétramère car elle contient 4 sous-unités protéiques, qui comportent au niveau de leur site actif un groupement héminique avec  $Fe^{3+}$ . Cette enzyme convertit le peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau, cette enzyme est d'autant plus efficace lorsqu'il y a une forte concentration de peroxyde d'hydrogène, c'est d'ailleurs pour cette raison qu'on la retrouve principalement au niveau des péroxysomes. On la retrouve de manière abondante au niveau des érythrocytes et des hépatocytes (Ko et al., 2000).
- La GPX est une enzyme présente surtout au niveau du cytosol capable de neutraliser le peroxyde d'hydrogène mais également de prendre en charge les autres hydroperoxydes d'origine lipidique. Elle possède une forte affinité pour le peroxyde d'hydrogène, néanmoins elle nécessite la présence de sélénium pour réduire ce dernier.

- Contrairement à la catalase elle intervient même lorsque la concentration de peroxyde d'hydrogène est faible comparativement à la catalase qui nécessite une certaine concentration. La deuxième ligne correspond aux défenses qui contrecarrent les ERO déjà formées en les piégeant. En leur cédant un électron les EROs deviennent alors inoffensives. Ils comprennent en principe les non-enzymatiques soit : la vitamine C, l'acide urique, le glutathion qui sont hydrophiles ainsi que la vitamine E et l'ubiquinol qui sont lipophiles.

Le glutathion est l'un des plus puissants antioxydants non-enzymatiques que l'organisme possède. Ce tripeptide agit via deux mécanismes pour réduire les EROs : capture des espèces radicalaire et en servant de cofacteur de la GPX. Sa forme réduite (GSH) sert de substrat à la GPX et sa diminution est le témoin d'un stress oxydatif, il faudra également quantifier sa forme oxydé (GSSG) et le ratio (GSH/GSSG). La diminution du ratio prouve l'action anti-oxydante. Il participe activement aux réactions d'oxydoréductions par l'oxydation de son thiol actif. Il est également capable de régénérer dans leur forme active la vitamine C et E (Masella et al., 2005).

La troisième ligne est assurée par un système antioxydant réparateur. Cette vague intervient à l'issue de la formation de radicaux. Ils éliminent l'excédent de produits oxydés (ADN, protéines et lipides membranaires) qui peuvent devenir toxique lorsqu'ils s'accumulent. Cette ligne comprend les systèmes enzymatiques de réparation de l'ADN (polymérase, glycosylases et les nucléases) et les enzymes protéolytiques (protéases, peptidases et les protéases).

Les protéines de stress HSPs en anglais *Heat Shock Protein*, elles représentent un groupe hétérogène de chaperons moléculaires avec un poids moléculaires et des fonctions distinctes. Elles facilitent le repliement des protéines naissantes ou dénaturées par des EROs. Elles empêchent ainsi la dégradation et les dommages irréversibles des protéines et agissent en cas de stress thermique et oxydatif (Nava & Zuhl, 2020; Slimen et al., 2014).

L'évaluation du stress oxydatif se fait par trois approches différentes :

- La quantification de la production directe des EROs est une méthode relativement coûteuse
- La mesure des produits d'oxydation par les EROs
- La mesure de défenses anti-oxydantes

## Chapitre 2

# Drépanocytose et trait drépanocytaire


### A. Anomalies de l'hémoglobine

Les hémoglobinopathies représentent un ensemble de troubles affectant la forme saine de l'hémoglobine, elles peuvent être qualitatives ou quantitatives. Plus de 1346 mutations des gènes de la globine entraînant la substitution, la délétion ou l'insertion d'acides aminés dans les chaînes polypeptidiques donnent naissance à des variantes de l'hémoglobine normale A, et 315 d'entre elles présentent des troubles fonctionnels comme une moindre affinité pour la fixation de l'oxygène ou des tétramères d'hémoglobine instables.

Les thalassémies représentent un groupe d'anémies hémolytiques microcytaires chroniques, héréditaires résultant d'un défaut de la synthèse de l'hémoglobine. Elles représentent les maladies les plus fréquentes de la famille des hémoglobinopathies.

- La bêta thalassémie : il existe trois degrés (mineur, intermédiaire et majeur) en fonction du déséquilibre impactant la chaîne bêta de l'hémoglobine. La synthèse de la bêta-globine est contrôlée par un gène sur chaque chromosome 11 (The Lancet, 2018). Plus de 200 mutations ponctuelles ou plus rares de déplétions ont été identifiées causant ce trouble, allant des mutations silencieuses liées à la réduction de la production de la chaîne bêta à des mutations entraînant une absence totale de cette dernière. Le trait bêta-thalassémie (mineur), est asymptomatique et entraîne une microcytose et une légère anémie. Si, en revanche, la synthèse des deux gènes est fortement réduite ou absente, l'individu est atteint de bêta-thalassémie majeure, également appelée anémie de Cooley.

**Tableau 3**  $\alpha$ -thalassémie



Variant	Synthèse chaîne	Manifestations cliniques	Hémoglobine produite
<b><math>\alpha</math>-thalassémie silencieuse (<math>\alpha^+</math>-thalassémie)</b>	Suppression d'une chaîne parmi les quatre	Asymptomatique,	Normal
<b><math>\alpha</math>-thalassémie trait mineure (<math>\alpha^0</math>-thalassémie)</b>	Suppression de deux chaînes parmi les quatre	Asymptomatique, érythrocytose, microcytose, hypochromie	Normal
<b><math>\alpha</math>-thalassémie intermédiaire HbH</b>	Suppression de trois chaînes parmi les quatre	Anémie microcytaire légère à modérée, anémie hypochrome, hémolyse chronique, anémie sévère épisodique	Hb Bart's ( $\gamma_4$ ) HbH ( $\beta_4$ )
<b><math>\alpha</math>-thalassémie majeure hémoglobine de Bart's</b>	Suppression des quatre chaînes	Provoque une hydrops foetal non immunitaire, généralement fatale (Chui and Waye, 1998)	Hb Bart's/HbH

- L'alpha-thalassémie est la résultante de mutations (réduction ou absence) de la chaîne alpha de l'hémoglobine généralement considérée comme la forme la plus légère de ces maladies simplement dû au fait qu'il existe quatre gènes alpha-globine. La production de cette chaîne est contrôlée par deux gènes sur chaque chromosome 16.

## B. La drépanocytose

La drépanocytose est une maladie autosomique récessive qui fait partie de la famille des hémoglobinopathies. Ces maladies résultent d'anomalies génétiques, leur gravité peut varier d'asymptomatique à mortelle affectant la structure ou la production de la protéine globine.

La drépanocytose ou anémie falciforme fait référence à un groupe d'anomalies génétiques identifié par le n° 57 de la classification internationale des maladies, groupe qui se compose d'anomalies avec au moins un allèle anormal de l'hémoglobine. La mutation aboutissant à la synthèse de l'hémoglobine anormale S, représente la forme la plus sévère et la mieux documentée à ce jour, cette hémoglobine à la particularité de polymériser. Ce phénomène altère sévèrement la structure des érythrocytes induisant une anémie hémolytique chronique et des crises vaso-occlusives (CVOs) aiguës caractéristiques de cette maladie.

**Tableau 4** Découvertes historiques sur la drépanocytose, tableau résumé (issu de Harris, 2001; Rees et al., 2010; Serjeant, 2010)

Auteurs et dates	Découvertes	Références
<i>James B. Herrick 1910</i>	Globules rouges en faucilles premier patient identifié atteint de drépanocytose Walter Clemen Noel (1884-1916)	(Herrick, 1910)
<i>E. Vernon Hahn et Elizabeth Gillespie 1929</i>	Découverte de la falciformation des GRs en situation de désoxygénation	(Hahn & Gillespie, 1927)
<i>Diggs 1933</i>	Crises vaso-occlusives (occlusion des capillaires par les GR en forme de faucilles)	(Diggs et al., 1933)
<i>Irving Sherman 1940</i>	Identification d'une hémoglobine anormale S	(Harris, 2001)
<i>Linus Pauling 1949</i>	Reconnue pour la première fois comme maladie moléculaire	(Pauling et al., 1949)
<i>Neel 1949</i>	Mode de transmission autosomique récessif	(Neel, 1949)
<i>Ingram 1956-1959</i>	Identification de la mutation responsable de la synthèse de l'hémoglobine anormale (substitution de l'acide glutamique par une valine hydrophobe)	(Ingram, 1959)
<i>Goldstein 1963</i>	Remplacement dans le codon (substitution d'une adénine par une thymine)	(Goldstein et al., 1963)

Le terme drépanocytose est en réalité un groupe génétique, dans lequel la pathologie résulte de l'hérédité de la mutation au niveau du 6<sup>ème</sup> codon de la  $\beta$ -globine de manière homozygote SS ou en double hétérozygote avec un gène en interaction (cf. tableau 4).

- **L'homozygotie (SS)** constitue la forme la plus fréquente mais aussi la plus sévère, est associée à la présence de deux copies du gène codant pour l'hémoglobine S, une sur chaque chromosome 11 (forme homozygote SS). Elle résulte d'une mutation d'inversion sur la chaîne bêta de l'hémoglobine ou un seul nucléotide l'adénine est remplacé par la thymine dans les codons de l'acide glutamique GAA ou GAG, à GUA ou GUG, codons de la valine, ce qui entraîne le remplacement de l'acide glutamique hydrophile (chargé négativement en sixième position de la chaîne globine  $\beta$  par la valine hydrophobe (neutre).

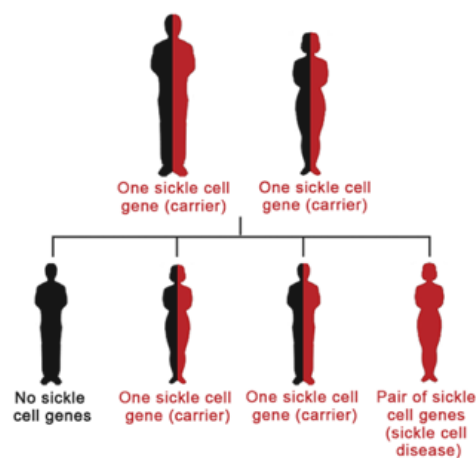
**Tableau 5** Récapitulatif des formes de la drépanocytose adapté de (Rees et al., 2010)

Génotypes	Mutations	Caractéristiques
<b>Formes sévères</b>		
Homozygotie HbSS	<b>HbS/S</b> ( $\beta 6\text{Glu} > \text{Val}$ / $\beta 6\text{Glu} > \text{Val}$ ) anémie falciforme	Forme la plus fréquente et sévère
HbS / mutant quantitatif du gène $\beta$ globine	<b>HbS/<math>\beta^0</math> thalassémie</b>	Répandue dans le bassin Méditerranéen et en Inde
	<b>HbS/<math>\beta^+</math> thalassémie</b>	Répandue dans le bassin Méditerranéen et en Inde; 1 à 5% HbA présente
HbS / mutant qualitatif du gène $\beta$ globine	<b>HbS / OArab</b> ( $\beta 6\text{Glu} > \text{Val}$ / $\beta 121\text{Glu} > \text{Lys}$ )	Afrique du Nord, moyen orient dans les Balkans (relativement rare)
	<b>HbS / D Punjab</b> ( $\beta 6\text{Glu} > \text{Val}$ / $\beta 121\text{Glu} > \text{Gln}$ )	Présent dans le monde avec une prédominance dans le nord de l'Inde
	<b>HbS / C Harlem</b> ( $\beta 6\text{Glu} > \text{Val}$ / $\beta 6\text{Glu} > \text{Val}$ / $\beta$ , $\beta 73\text{Asp} > \text{Asn}$ )	Double mutation pour la chaîne bêta globine (très rare)
	<b>HbC / S Antilles</b> ( $\beta 6\text{Glu} > \text{Lys}$ / $\beta 6\text{Glu} > \text{Val}$ , $\beta 23\text{Val} - \text{Ile}$ )	Double mutation pour la chaîne bêta globine (très rare)
	<b>HbS / Québec-CHORI</b> ( $\beta 6\text{Glu} > \text{Val}$ / $\beta 87\text{Thr} > \text{Ile}$ )	Deux cas décrits semblable au trait drépanocytaire HbAS
<b>Formes modérées</b>		
	<b>HbS / C</b> ( $\beta 6\text{Glu} > \text{Val}$ / $\beta 6\text{Glu} > \text{Lys}$ )	25 à 30% de la population africaine
	<b>HbA / S Oman</b> ( $\beta^A$ / $\beta 6\text{Glu} > \text{Val}$ , $\beta 121\text{Glu} > \text{Lys}$ )	Méditerranée ; HbA présente à hauteur de 6 à 15%
	<b>HbS graves / <math>\beta^+</math> thalassémie</b>	Double mutation (très rare)

- Il existe une forme hétérozygote HbA/S dit « trait drépanocytaire » porteur et transmetteur du gène drépanocytaire mais qui ne présente pas de complications cliniques sévères. Cette forme qui fait l'objet de cette thèse sera traitée dans une partie ultérieure.

## 1. Transmission

La drépanocytose fait partie des maladies autosomiques récessives désignant les atteintes des chromosomes non sexuels les « autosomes », ce qui signifie qu'elle peut survenir aussi bien chez les filles que chez les garçons. Chaque individu possède deux copies de chaque gène : une copie provenant de chaque parent. Le terme récessif apporte une précision sur l'expression de la pathologie, ainsi, pour qu'une personne soit drépanocytaire il faut qu'elle hérite de ses deux parents de gènes défectueux.

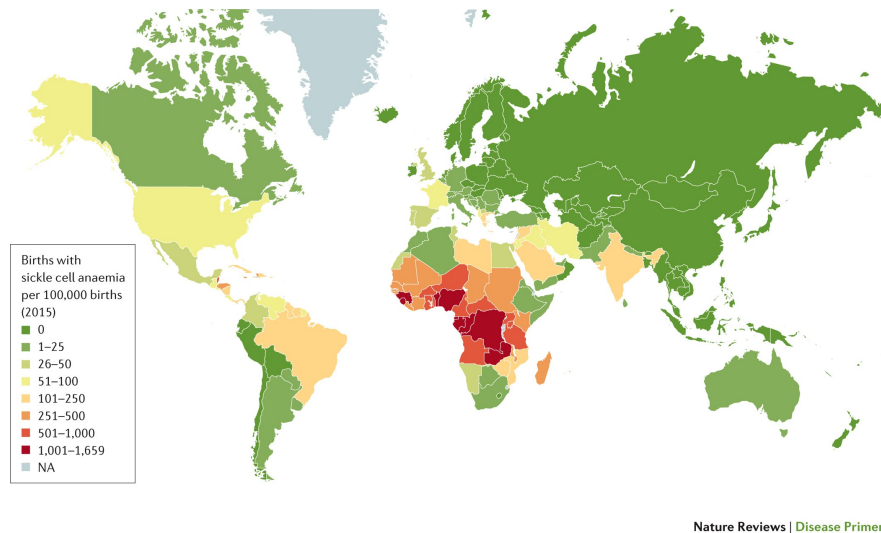


**Figure 17** Transmission de l'allèle anormal responsable de la drépanocytose.

## 2. Epidémiologie

### a) *Distribution mondiale*

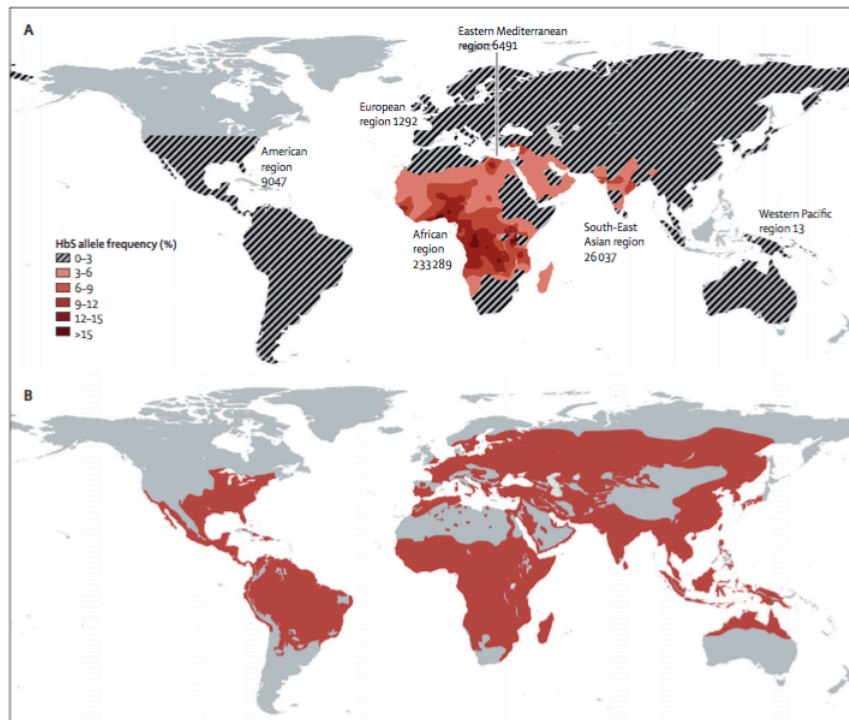
La drépanocytose est la maladie génétique la plus répandue dans le monde, ce qui fait d'elle une priorité de santé publique déclarée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Sur les 332 000 nouveaux nés chaque année avec une hémoglobinopathie majeure dans le monde, 275 000 sont atteints de drépanocytose (Modell & Darlison, 2008; Piel, 2013). Cependant, sa répartition est inégale avec une forte prévalence en Afrique subsaharienne (ASS) où vivent environ 15 millions de personnes sur les 25 millions estimés dans le monde (Modell & Darlison, 2008). Les zones les plus fréquentes en Afrique semblent refléter les origines des différents haplotypes africains (Sénégal, Bénin et République Centrafricaine ou Bantou).



**Figure 18** Répartition de la drépanocytose (Piel, 2013)

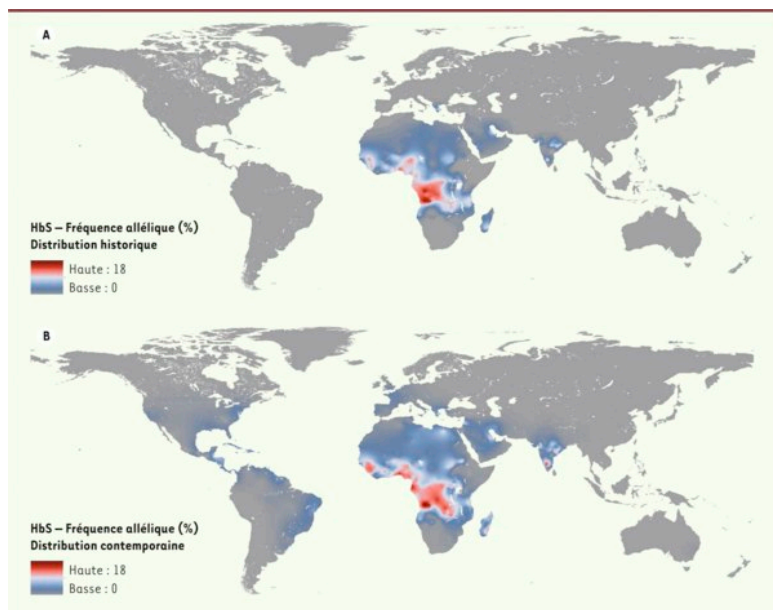
La propagation dans le monde de l'allèle bêta S a été causée principalement par : L'endémicité du paludisme, il n'existe pas moins de quatre formes aboutissant au paludisme. Néanmoins, dans ce manuscrit, nous nous arrêterons uniquement au *Plasmodium.falcifarum*. Le *P.falcifarum* est un parasite qui cause une forme sévère du paludisme, il est transmis par une anophèle femelle. L'hypothèse selon laquelle la fréquence du paludisme pourrait être en lien avec la distribution de l'allèle  $\beta^S$  a été formulée pour la première fois par Haldane puis par Allison en 1954 (Allison, 1954) et confirmée par des études contemporaines (Piel, 2013). Il a fallu de nombreuses années pour confirmer cette hypothèse selon laquelle le trait drépanocytaire, soit la forme hétérozygote (HbA/S) confère une protection contre le paludisme (Aidoo et al., 2002 ; Rockett et al., 2014). Bien que les mécanismes de cette protection fassent encore débat, il semblerait que la présence d'hémoglobine S induit une augmentation de la clairance des globules rouges contaminés (cellules hôtes du parasite). De plus, on note une augmentation de la phagocytose des cellules contaminées, empêchant ainsi le développement du parasite plutôt qu'une diminution de l'infectibilité qui est semblable aux non porteurs (Kariuki & Williams, 2020).





**Figure 19** (A) Cette carte montre la distribution de l'allèle HbS. Les chiffres indiquent les estimations du nombre total annuel combiné d'individus affectés par l'HbSS, l'HbSC et l'HbS/ $\beta$ -thalassémie par région OMS (adapté de Modell et Darlison). (B) est représentée la distribution mondiale du paludisme (en rouge) avant l'intervention pour contrôler le paludisme (Rees, Williams, et Gladwin 2010).

Les mouvements délibérés ou forcés de population tels que la traite négrière et le commerce triangulaire ont permis d'étendre les foyers du gène anormal vers les Etats-Unis, l'Europe et les Caraïbes, augmentant ainsi sa distribution et sa prévalence vers ces territoires. Les dépistages massifs aux Etats-Unis ont permis également d'observer la forte propagation du trait au-delà des régions touchées par le parasite du paludisme. Aujourd'hui, cela représente plus de 8% de la population américaine.



**Figure 20** Distribution historique et contemporaine de la drépanocytose (Piel, 2013)

### b) Prévalence en France

En France, on estime que la drépanocytose est la maladie génétique la plus fréquente et la plus dépistée (de Montalembert et al., 2006). Elle a d'ailleurs été reconnue comme une priorité de la loi de santé publique de 2004 (*Loi n° 2004-806 du 9 août 2004 relative à la politique de santé publique*). Le dépistage néonatal a été mis en place depuis 1989 en France et en Guadeloupe depuis 1984. Depuis ces dates, on ne compte pas moins de cinq millions de nouveau-nés qui ont été testés pour déceler la pathologie. D'après le rapport d'activité (Programme National du dépistage néonatal 2018) en 2018, sur 286 671 nouveau-nés dépistés en France et 22 192 en Outre-mer (Guadeloupe, Guyane, Mayotte et les TOMs), près de 505 nouveau-nés seraient atteints de syndrome drépanocytaire majeur (432 en métropole et 73 en Outre-Mer), représentant une incidence de 1/1 333 (1/1 480 en métropole et 1/465 en Outre-Mer).

En Guadeloupe, un individu sur huit est porteur du trait de la drépanocytose. Depuis la création en 1990 du premier centre Caribéen de la drépanocytose, puis le développement du centre de référence du centre hospitalier de Pointe-à-Pitre et de la Basse-Terre en 2006, les patients bénéficient d'une meilleure prise en charge.

**Tableau 6** Résultats de la campagne de dépistage de la drépanocytose en 2016 (Cavazzana et al., 2018)

Régions	Nombres de cas dépistés	Nombres de malades (SDM)	Syndrome drépanocytaire				Hétérozygotes	
			SS	SC	SB	Autres	AS	Fréquence AS NN ciblés
<b>Métropole</b>	4 661 645	6 181	4 393	1 299	460	29	124 617	1/37
<b>Guadeloupe</b>	214 590	729	558	143	25	3	7 218	1/30
<b>Guyane</b>	151 853	681	414	254	13	0	11 941	1/13
<b>Martinique</b>	154 180	447	311	106	23	7	4 767	1/32
<b>Mayotte</b>	154 772	229	219	0	10	0	6 460	1/24
<b>TOMs</b>	471	2	2	0	0	0	12	1/39
<b>Ile de la Réunion</b>	344 086	90	80	3	6	1	7 210	1/48

NN : nouveau-nés ; SDM : syndrome drépanocytaire majeur ;

De plus en plus d'outils permettent d'identifier la prévalence de la drépanocytose : dépistages néonataux obligatoires dans certaines régions à risque, au sein de l'armée américaine et dans les fédérations sportives ou encore dans les registres du don du sang.

### 3. Dépistage

Depuis la désignation de la drépanocytose comme maladie moléculaire par Linus Pauling, de nombreuses techniques de dépistage ont été développées permettant de discriminer les différentes hémoglobines anormales.

Dans un tube d'EDTA on prélève un échantillon veineux qui sera par la suite analysé par électrophorèse sur gel d'agarose. L'**électrophorèse** est une méthode de séparation de particules chargées électriquement par migration différentielle sous l'action d'un champ électrique dépendant de la masse moléculaire. La masse moléculaire de l'hémoglobine S étant inférieure à celle de l'hémoglobine A1, on peut ainsi les distinguer aisément lors de cette technique. La combinaison de l'**iso-électrofocalisation** et de la **chromatographie de haute performance** est utilisée pour diagnostiquer les formes mutantes rares de l'hémoglobine (tableau 5).

a) *Autres méthodes :*

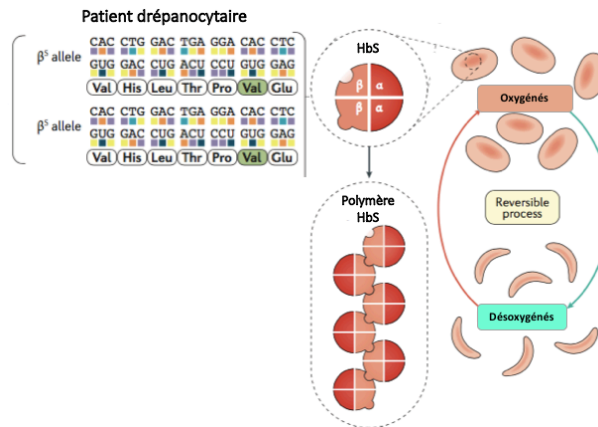
La technique *d'Emmel* dite test de falciformation au métabisulfite est une technique moins coûteuse et plus accessible que l'électrophorèse, elle est préconisée dans les régions à risque et à forte précarité pour dépister un plus grand nombre. Elle permet de détecter une éventuelle falciformation des globules rouges en 30 minutes. Cette technique présente un certain nombre d'inconvénients pour discriminer les différentes hémoglobines anormales.

La technique *d'Itano* (Itano, 1953) est un test de solubilité de l'hémoglobine qui se pratique sur un hémolysat (produit obtenu lors de la destruction d'hématies) d'hémoglobine ajusté à 4 %. En présence d'hyposulfite de sodium, l'hémoglobine S précipite. Après centrifugation, on observe un caillot rose et un surnageant limpide en présence d'HbS ; en l'absence d'HbS, le surnageant est rouge.

#### 4. Physiopathologie de la drépanocytose

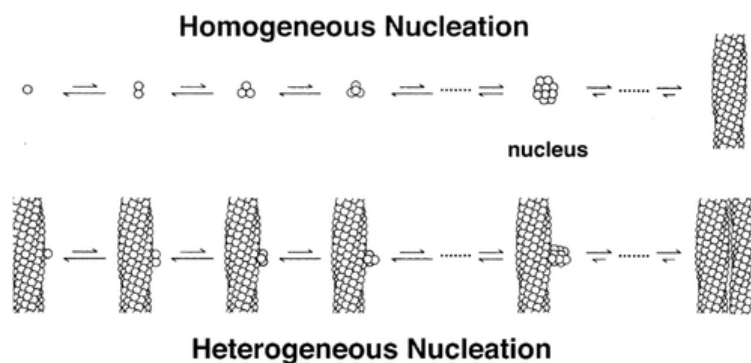
a) *La polymérisation des hémoglobines S*

La drépanocytose (SCD) est la résultante de trouble pléiotrope (Hebbel, 2014), la compréhension de sa physiopathologie est une condition préalable à l'appréciation et à la mesure de la gravité de cette pathologie. L'occurrence du phénomène dynamique de la polymérisation de l'hémoglobine S est l'événement moléculaire à l'origine de la pathogénèse de la maladie (Kato et al., 2018). Le remplacement de l'acide glutamique hydrophile par la valine hydrophobe offre un point de collage à l'extérieur de l'hémoglobine en situation de désoxygénation. Des liaisons hydrophobes se forment avec les autres chaînes bêta d'hémoglobine voisines entre la valine en 6<sup>ème</sup> position, l'alanine en position 70, la phénylalanine en position 85 et la leucine en position 88.



**Figure 21** Polymérisation de l'hémoglobine S (Kato et al., 2018)

Les ajouts consécutifs de tétramères d'HbS donnent une chaîne polymère double brin (Ferrone, 2004; Wishner et al., 1975). Par la suite, la combinaison de sept de ces paires de brins à moitié décalés donne une longue fibre insoluble en forme de corde hélicoïdale à quatorze brins (Noguchi & Schechter, 1985). Des « baguettes moléculaires » apparaissent alors dans le cytoplasme du globule rouge, qui le déforment et lui confèrent l'aspect en faucille caractéristique de la maladie.



**Figure 22** Processus de polymérisation des HbS à la falciformation des GRs SS (Ferrone, 2004)

La polymérisation est un processus coopératif qui demande un certain délai d'initiation. Certains facteurs sont en mesure d'accélérer le processus de falciformation : la concentration en HbS, la pression partielle d'oxygène, la température, le pH, le 2,3-diphosphoglycérate (2,3-DPG) et la présence de différentes molécules de Hb (Bookchin et al., 1976; Eaton & Hofrichter, 1987). L'hémoglobine S a une affinité pour l'oxygène réduite comparativement à l'hémoglobine normale A, les facteurs que nous venons de citer contribuent également à réduire son affinité et favoriser le processus de polymérisation.

## 5. La drépanocytose : maladie aux complications multiples

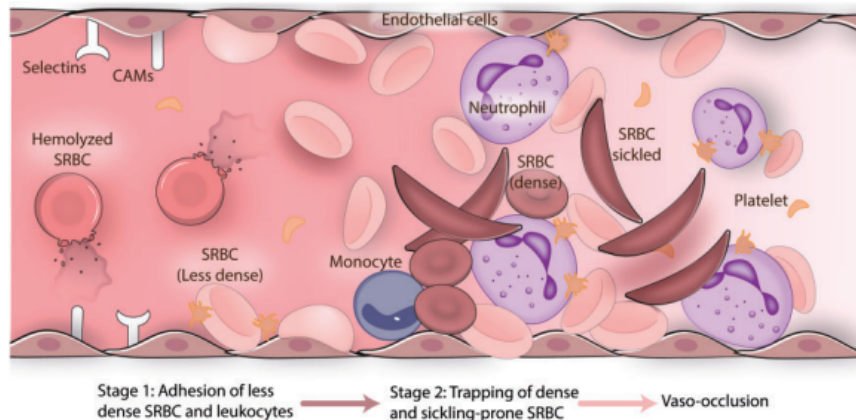
### a) *Hémoglobine S et microcirculation : Vaso-occlusion*

La vaso-occlusion qui consiste en l'obstruction des vaisseaux sanguins est au cœur des complications de la drépanocytose. Ces évènements sont responsables des crises douloureuses aiguës et la nécessité de soins médicaux d'urgence chez les patients drépanocytaires. Il existe également des évènements occlusifs silencieux sans douleur qui sont tout aussi capables de générer des dommages tissulaires.

Ces évènements surviennent principalement dans la microvascularisation, au niveau des veinules (bas débit, pauvre en O<sub>2</sub>). Cela n'exclut pas les évènements vaso-occlusifs au sein des artérioles. Des éléments déclencheurs moléculaires et physiques ont été identifiés tels que : l'hypoxie, l'infection, la déshydratation, le stress et l'hyperthermie.

Le processus de polymérisation bien qu'il soit au cœur de la pathogénèse de la maladie ne suffit pas à expliquer ces évènements à lui seul. Depuis quelques décennies, il a été reconnu que le temps de polymérisation est supérieur au temps de transit des GRs dans les compartiments faibles en oxygène (Conran & Embury, 2021; Mozzarelli et al., 1987; Veluswamy et al., 2019). Les drépanocytes ont le temps de regagner les vaisseaux plus larges voire de se réoxygéner. *A contrario*, si le temps de transit est supérieur à celui de la polymérisation, ces cellules rigides et déformées peuvent compromettre la microcirculation. Le délai de polymérisation est un facteur critique dans la CVO. Ainsi, la survenue des CVOs est un phénomène complexe dépendant entre autres : 1) **du débit sanguin régional microvasculaire** et 2) **du délai d'apparition des polymères** (Ferrone, 2015; Veluswamy et al., 2019).

Tous les facteurs agissant sur ces éléments offriront un environnement propice à l'occlusion. La physiopathogénèse de ces événements est un processus complexe multifactoriel et comprend l'action de plusieurs cellules (leucocytes, GRs, Ces et plaquettes) (Zhang et al., 2016). L'activation des cellules endothéliales initie le processus inflammatoire et l'adhésivité de l'endothélium, contribuant ainsi à la diminution du flux sanguin et au piégeage des composés circulants (*figure 23*). Le phénomène de vaso-occlusion est la résultante de l'interaction dynamique entre la rhéologie sanguine perturbée (déformabilité diminuée des GRs) et un état dysfonctionnel vasculaire (pro-inflammatoire et pro-coagulant). Il convient de rajouter le stress oxydatif comme élément majeur.



**Figure 23** Etapes des crises vaso-occlusives (Conran & Embury, 2021)

## 6. Hémolyse

L'hémolyse est un processus physiologique normal qui entraîne la destruction ou « la lyse » des GRs sénescents, de manière générale ces cellules se lysent au bout de 120 jrs. Dans le cas de la drépanocytose les GRs ont une demie vie considérablement réduite à 15 jrs. Les dommages et le dysfonctionnement de la membrane des GRs causés par la répétition des cycles de polymérisation-falciformation accélèrent le processus d'hémolyse. Au fil des cycles ces cellules prennent une forme définitive en faucille nommée en anglais *irreversible sickle cells* (ISC) (McCurdy, 1969). On observe deux types d'hémolyse : une intracellulaire (1/3) provoquée par la fragilisation de la membrane des GRs SS par le phénomène de polymérisation et une extracellulaire (2/3), induite par phagocytose des macrophages. Les GRs fragilisés révèlent des antigènes détectables par les anticorps existants et les membranes exposent la phosphatidylsérine, ainsi ces deux mécanismes favorisent la phagocytose (Kato et al., 2018). Le contenu cellulaire s'accumule et est à l'origine de plusieurs effets indésirables : stress oxydatif, inflammation et dysfonctionnement vasculaire (Alayash et al., 2018 ; Nader et al., 2020).

## 7. Stress oxydatif

Le stress oxydatif est augmenté dans le cas de la drépanocytose aussi bien dans les cellules érythrocytaires que dans le compartiment plasmatique. Il joue un rôle majeur dans le phénomène d'hémolyse, dans la dysfonction vasculaire, les crises vaso-occlusives et les lésions tissulaires. Ces phénomènes contribuent également à la hausse du stress oxydatif (Alayash, 2018b; Chirico & Pialoux, 2012). Ainsi on peut parler de cercle vicieux.

L'accumulation des ROS dans le cas de la drépanocytose provient principalement de :

***L'accélération de l'auto-oxydation de l'hémoglobine S*** : Comme l'hémoglobine A, l'HbS s'auto-oxyde en présence d'oxygène pour former de la méthémoglobine HbFe<sup>3+</sup>, par l'oxydation de Fe<sup>2+</sup> en Fe<sup>3+</sup>. Cependant, l'HbS a une capacité d'auto-oxydation de 1.7 plus élevée que l'HbA (Hebbel et al., 1988). Par ailleurs, si dans le cas de l'HbA les défenses anti-oxydantes sont en mesure de contrecarrer la réaction et les produits oxydatifs qui en découlent l'HbS induit quant à elle des niveaux trop élevés d'EROs (Chirico et al., 2016; Hierso et al., 2014).



Malgré une augmentation plus soutenue de la SOD, les produits de dismutation ( $H_2O_2$ ) s'accumulent. De surcroît, plusieurs autres enzymes impliquées dans l'élimination de l'anion super-oxyde et du  $H_2O_2$  comme la catalase et la GPX, sont insuffisants au même titre que le glutathion dans les GRs SS (Chirico et al., 2012b; Gizi et al., 2011).

**La libération de l'hémoglobine et de l'hème** : l'hémolyse est à la fois une cause et une source de production des EROs. L'hémoglobine plasmatique et l'hème sont captés par l'haptoglobine et l'hémopexine, respectivement, pour réduire leur toxicité et les dommages tissulaires. Dans le cas de la drépanocytose, leur accumulation favorise l'environnement pro-oxydant (Kato et al., 2017). Par ailleurs, l'hème libre s'intercale entre les phospholipides membranaires des Ces induisant des dommages et leur activation. Le dysfonctionnement des Ces chez les patients drépanocytaires provient de la réduction de la bioactivité/biodisponibilité chronique du NO : par sa consommation par les produits d'hémolyse, pour former de la methHb et du nitrate. On note également une déplétion de ces précurseurs via la libération de la L-arginase qui piège L-arginine pour former de L-ornithine et de l'urée (Chirico & Pialoux, 2012; Wood et al., 2004). Il a récemment été montré chez des enfants drépanocytaires que l'altération vasculaire était corrélée à l'augmentation systémique du stress oxydatif (Möckesch et al., 2017).

**La voie de la xanthine oxydase** : les phénomènes d'ischémie/reperfusion induits par les épisodes vaso-occlusifs douloureux ou silencieux régulent à la hausse la production des ROS. Lors des CVOs le flux sanguin est interrompu transitoirement par les drépanocytes rigides. La xanthine déshydrogénase présente en condition normoxique devient la xanthine oxydase lors de l'ischémie, et en situation de réoxygénation, réagit avec l'oxygène pour former l'anion superoxyde (Chirico et al., 2012b; Szocs, 2004).

La production de ROS est également entretenue par **l'activité de la nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) oxydase** régulée à la hausse. Ces phénomènes altèrent sévèrement les composants membranaires conduisant finalement à la fragilité et à l'hémolyse accrue des GRs. Les ROS peuvent être produits à partir de la fixation de la NADPH oxydase sur les cellules endothéliales et également à partir de neutrophiles activés.

## 8. Adhésion/inflammation

L'endothélium exprime diverses molécules d'adhérence cellulaire qui servent de médiateurs pour la fixation et le roulement des plaquettes (P-sélectine) et des leucocytes (E-sélectine, VCAM-1 et ICAM-1) lors de l'activation cellulaire en réponse au processus d'inflammation.

Dans le cas de la drépanocytose, l'environnement vasculaire est marqué par une inflammation chronique, indiquée par un nombre de leucocytes plus élevé que la normale, un nombre de cytokines élevé (IL-8, IL-1B, TNF-alpha) (Francis & Haywood, 1992) et une augmentation des molécules d'adhérence intercellulaire soluble-1 (ICAM-1) et des molécules d'adhérence cellulaire vasculaire-1 (VCAM-1), qui vont activer les Ces. Ces éléments jouent un rôle essentiel dans l'initiation des CVOs (Rees et al., 2010).

Il convient de noter que l'hémolyse accrue (Belcher et al., 2017), la génération de EROs et la déplétion de la biodisponibilité du NO favorise l'inflammation connue et observable chez les patients drépanocytaires (Nader, et al., 2020). L'hème acellulaire libéré par l'oxydation de Hb est un puissant agoniste et activateur des récepteurs toll like 4 (TLR4) qui favorise l'activation des Ces (Nader, Romana, & Connes, 2020).

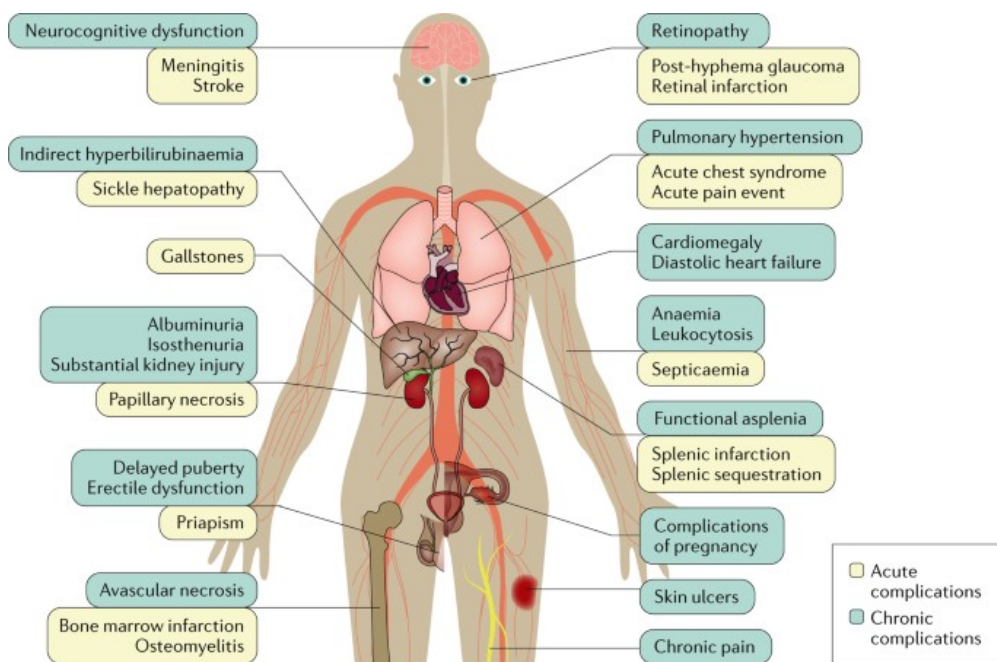
On soupçonne également que l'hème peut activer le système immunitaire inné du complément et stimuler les neutrophiles pour libérer les pièges extracellulaires des neutrophiles (NET) (G. Chen et al., 2014). Ces structures en forme de maille composées de chromatine décondensée, contribuent à l'activation des Ces et stimulent davantage les molécules d'adhérence. Ainsi elles favorisent le maillage propice à l'occlusion avec les plaquettes, les GRs et les molécules coagulantes.

Le NO, au-delà de son rôle essentiel dans la vasodilatation, régule négativement la transcription des molécules d'adhérence (ICAM-1, VCAM) et des sélectines (E et P), et inhibe l'activation plaquettaire (De Caterina et al., 1995). L'Hb plasmatique réduit ce facteur en le piégeant et en réduisant ces précurseurs. La diminution du NO favorise l'activation plaquettaire chez les drépanocytaires (Kato et al., 2017)

Par ailleurs, les épisodes répétés d'ischémie/reperfusion induits par les CVOs contribuent à la progression du stress oxydatif.

a) *Conséquences multi-systémiques*

La drépanocytose est une affection multi-systémique très complexe caractérisée par des complications à la fois aiguës et chroniques. Ces dernières années, la prise en charge s'est nettement améliorée au point de rallonger l'espérance de vie des patients surtout dans les pays à fort revenu. Cependant, même avec la connaissance actuelle et les thérapies existantes, l'espérance de vie et la qualité de vie restent encore limitées.



Nature Reviews | Disease Primers

**Figure 24** Complications cliniques de la drépanocytose (Kato et al., 2018)

## C. Trait drépanocytaire

### 1. Généralités

Le trait drépanocytaire (TD) ou encore forme hétérozygote HbS/A, se caractérise par la présence au sein des érythrocytes à la fois de l'hémoglobine normale HbA (> 50%) et de l'hémoglobine anormale HbS (< 50%) (McCurdy, 1969). Généralement considérés comme la forme la moins grave de la drépanocytose, les porteurs du trait drépanocytaire sont traité comme étant asymptomatique. En effet, plusieurs preuves existent d'une croissance et d'un développement tout à fait normal (Kramer et al., 1978 ; Naghma-e-Rehan, 1981 ; Qamra et al., 2011) et d'une espérance de vie semblable aux HbAA (Ashcroft & Desai, 1976). Ces auteurs justifient le caractère bénin des PTDs par le faible taux d'hémoglobine S et un taux plus conséquent d'hémoglobine HbA capable de ralentir la polymérisation des hémoglobines S. Bien qu'ils ne présentent pas de complications sévères comme les HbSS, les PTDs sont des potentiels transmetteurs de l'allèle  $\beta^S$ . Par ailleurs, la présence de cette hémoglobine dysfonctionnelle conduit à des spécificités qui ont parfois remis en cause le caractère asymptomatique. Par exemple, les activités ou les processus qui provoquent l'hypoxie, la déshydratation, l'acidose, l'hypo/hyperthermie, l'augmentation de la concentration de 2,3-diphosphoglycérate (2,3-DPG) du sang, peuvent augmenter la falciformation même chez les individus PTDs. Dans ce sens, quelques revues ont tenté de décrire les complications associées aux TD au repos et à l'exercice (Key & Derebail, 2010; Naik & Haywood, 2015; Pecker & Naik, 2018; Thoreson et al., 2015)

**Dans cette partie nous décrirons les complications les mieux documentées et les plus récurrentes. Puis, dans le chapitre suivant nous aborderons le cas particulier de l'exercice chez les PTDs.**

## 2. Profil sanguin

D'un point de vue biologique, les PTDs présentent a priori un profil similaire à l'état physiologique. Des études longitudinales ont montré que les taux d'hémoglobines et de réticulocytes étaient semblables aux personnes à hémoglobine normale (AA) (Krailadsiri et al., 2001). Et pour cause, il a été montré que les PTDs ne présentaient pas d'anémie chronique ou de défauts morphologiques de leurs GRs semblables aux homozygotes SS. Toutefois quelques particularités ont été mises en évidence sur les mêmes paramètres hématologiques. Des auteurs ont noté un volume globulaire moyen et la teneur moyenne en hémoglobine plus bas chez les PTDs comparativement aux AA. Ces spécificités pourraient expliquer les raisons pour lesquelles les PTDs présentent dans des conditions particulières (altitude, exercice) certaines complications (maladie rénales, hématurie etc). La répartition du taux d'hémoglobine S dans les GRs et les variations interindividuelles de la concentration d'hémoglobine S chez les PTDs pourraient potentiellement expliquer ces différences.

L'ensemble des données actuelles converge vers une viscosité sanguine légèrement accrue chez les PTDs comparativement à leurs pairs non porteurs. Ceci serait attribuable à une déformabilité réduite et un seuil de désagrégabilité (force nécessaire pour disperser les agrégats) traduisant une tendance d'agrégabilité de leur GRs supérieure aux AA. Ces distinctions ont été en majeure partie observées dans des conditions particulières (hyperthermie, altitudes, exercice) (Kark et al., 1987a; Kerle & Nishimura, 1996; Robinson et al., 1976). Certains auteurs ont néanmoins observé ces effets à l'état de repos (Monchanin et al., 2005). Malgré de fortes suppositions de falciformation des GRs chez les PTDs, il n'existe peu ou pas de preuves directes de ce phénomène *in vivo*.

Des preuves récentes offrent de nouvelles perspectives pour tenter de comprendre dans quelles mesures le faible taux de cette hémoglobine anormale pourrait être à l'origine des complications liées chez les PTDs. Dans ce sens, certains facteurs génétiques et environnementaux héréditaires peuvent moduler la capacité de polymérisation de HbS. Quatre catégories ont été identifiées et sont susceptibles de faire progresser le TD vers un état symptomatique (Xu & Thein, 2019). Ces formes ne seront pas développées dans ce travail de thèse :

- HbS et co-héritage avec un modificateur génétique : ex PKLRgène (déficience de la pyruvate kinase qui a pour conséquence l'accumulation du 2,3-DPG) (Cohen-Solal et al., 1998).
- Forme dominante de HbS : les mutations  $\beta$  Leu68Phe, l'HbS Antilles ( $\beta$  Glu6Val, Val23Ile) et l'HbS-Sao Paolo ( $\beta$  Glu6Val, Lys65Glu) ont tendance à réduire la saturation et l'affinité de l'HbS pour l'oxygène et les polymères formés sont généralement plus résistants et plus stables.
- Hérité non-mendélienne appelée disomie fait référence à la transmission de chromosomes homologues fournis par un seul parent au lieu d'être transmis par les deux parents.
- Hétérozygotie pour HbS

### 3. Complications cliniques et TD

#### a) *Maladies rénales et TD*

Les complications rénales sont les événements les plus récurrents chez les PTDs, elles comprennent une altération de la concentration urinaire (hyposthénurie), une hématurie et une nécrose papillaire.

#### Hématurie

On note une prévalence plus élevée d'hématurie à la fois microscopique et macroscopique chez les PTDs à environ 4 % contre 2 % chez les personnes à hémoglobine normale (Heller et al., 1979; Tsaras et al., 2009). L'étiologie de cette complication a été attribuée principalement à une nécrose papillaire accrue. Au niveau de la médullaire rénale la pression en oxygène est basse ces conditions sont favorables à la polymérisation de la désoxyhémoglobine S chez les PTDs.

### Hyposthénurie

L'hyposthénurie fait référence à l'incapacité de concentrer les urines, traduisant entre autres une insuffisance de la fonction rénale. Ce trouble a souvent à plusieurs fois été signalé chez les PTDs. Cette complication a été identifiée comme étant le résultat de micro-infarctus médullaire et des troubles du flux sanguin rénal. Une relation corrélative négative a été montrée entre le taux d'hémoglobine S et l'osmolalité urinaire.

L'hyposthénurie, si elle n'est pas corrigée par un apport hydrique équivalent aux pertes pourrait contribuer aux complications observées à l'exercice chez les PTDs.

Le carcinome médullaire rénal qui est une tumeur rare et agressive du rein a été également observé de manière plus fréquente chez les PTDs. La tumeur est issue de l'épithélium des canaux collecteurs distaux et se développe selon un modèle infiltrant, envahissant les sinus rénaux.

### *b) Compartiment veineux : trombo-embolisme veineuse*

Une étude rétrospective de 65 154 hommes afro-américains hospitalisés comptant 7.8 % de PTDs a identifié un taux plus élevé d'embolie pulmonaire chez les PTDs d'environ 2.2 % versus 1.5 % chez les non PTDs (Heller et al., 1979). Une étude cas-témoin menée par Austin et al (Austin et al., 2007) a montré que la prévalence de thrombose veineuse était deux fois plus élevée chez les PTDs comparativement aux non PTDs.

Folsom et al (Folsom et al., 2015) ont récemment rapporté que le TD ont un risque deux fois plus élevé d'embolie pulmonaire.

Ces auteurs ont également montré que le TD représentait un risque plus élevé de TEV comparativement au gène de la prothrombine (G20210A), connu pour accentuer le risque de TEV.

L'origine de ces événements a été attribuée à une légère tendance d'hypercoagulabilité chez les PTDs comparativement aux non porteurs. Les facteurs de coagulation tels que : les complexes thrombine-anti-thrombine, le fragment de prothrombine et les D-dimère s'expriment d'avantage comparativement aux personnes à hémoglobine normale mais reste inférieurs à ce que l'on pourrait retrouver chez les homozygotes SS (Naik et al., 2016; Tsaras et al., 2009; Westerman et al., 2002). La capacité des GRs des PTDs à se falciformer peut également favoriser cet état pro-coagulant (Chiu et al., 1981).

Une étude plus récente n'a pas signalé de différences de ces facteurs chez les PTDs par rapport aux AA (Amin et al., 2015). Les mécanismes permettant d'expliquer ce risque élevé de TEV chez les PTDs sont méconnus et d'autres études sont nécessaires.

### *c) Compartiment artériel*

#### Diabète et TD

Le diabète est un trouble métabolique caractérisé par hyperglycémie chronique. Cette maladie entraîne de graves complications vasculaires et son taux de mortalité est très élevé dans les territoires de forte prévalence du TD (Ajayi & Kolawole, 2004; Kengne et al., 2013). Des études récentes ont montré que les PTDs diabétiques développent davantage de complications (Skinner et al., 2018). D'ailleurs les indices de santé vasculaire (VOP, FMD) mesurés chez les PTDs diabétiques témoignent d'un état dysfonctionnel endothélial exacerbé comparativement aux PTDs ou diabétiques (Diaw et al., 2015; Skinner et al., 2019). Ces études ont notamment démontré que ce dysfonctionnement était le résultat de la déplétion du NO, induit par l'augmentation du stress oxydatif et des désordres hémorhéologiques amplifiés par les deux facteurs.

### *d) Autres atteintes*

L'infarctus splénique a été observé chez plusieurs PTDs. Exceptés les rapports de cas, il n'y a pas d'association clairement définie, entre le TD et la survenue de ces événements. Des situations ont tout de même été identifiées telles que l'altitude et les voyages en avion (Cooley et al., 1954).

Des associations entre le TD et l'insuffisance cardiaque, la cardiomyopathie ou encore les facteurs de risques de maladies coronariennes ont été suggérées mais les récentes méta-analyses n'ont pas identifié de lien direct entre le TD et la survenue de ces complications (Bello et al., 2017 ; Naik et al., 2018).



## Chapitre 3

# Exercice et trait drépanocytaire

Le terme « *exercice physique* » désigne un évènement ponctuel, qui fait intervenir une demande métabolique, et qui initie des modifications physiologiques (ajustement cardiovasculaires, thermorégulateurs, activation des voies métaboliques et neuromusculaires) dans le but de toujours garder un état d'homéostasie. Des changements physiologiques se manifestent pour trouver un nouvel équilibre face à la demande métabolique importante. Ces changements comprennent une augmentation de la libération de l'oxygène par les GRs, la diminution du volume plasmatique mais également, l'augmentation du stress oxydatif, de la production de chaleur, de la perfusion microvasculaire, l'accumulation des ions H<sup>+</sup> induisant une acidose métabolique dans certains cas (Wilmore et al., 2017). On note par conséquent, une hypoxie tissulaire et de la libération de médiateurs inflammatoires (Shephard, 2003). Ces perturbations seront plus ou moins marquées en fonction de l'environnement, l'intensité et le niveau d'entraînement des individus. L'environnement chaud par exemple, favorise la déshydratation et entraîne également des contraintes cardiovasculaires importantes réduisant la performance d'une part et d'autre part accentue le risque de coup de chaleur et de rhabdomyolyse (Périard & Racinais, 2019).

Les multiples adaptations observées pendant l'exercice et durant la récupération ne causent pas nécessairement de complications chez les personnes saines en revanche, cela pourrait potentiellement déclencher la falciformation des GRs contenant des l'HbS. C'est pour éviter les complications enclenchées par certaines modalités d'exercice que la plupart des cliniciens ont longtemps fait preuve de réticence vis-à-vis de la pratique physique chez les patients drépanocytaires HbSS. Comme nous l'avons décrit dans le chapitre précédent, les PTDs présentent certaines spécificités voire un risque accru de complications vasculaires (TEV, insuffisance rénale) au repos, qui pourrait être accentué à l'exercice (Eichner, 2010; Key et al., 2015; Quattrone et al., 2015). C'est en effet dans ces circonstances que les premières observations de complications associées au TD sont apparues (Jones et al., 1970a). De nombreux rapports de cas et études épidémiologiques remettent toujours en cause le caractère bénin et asymptomatique du TD.

*Dans ce chapitre il s'agira de décrire l'ensemble des recherches existantes expliquant les complications dont les PTDs sont victimes, allant de l'épidémiologie de ces événements tragiques jusqu'au modèle physiopathologique décrit à ce jour.*

## B. Complications à l'exercice et TD

Les rapports de mort subite et de rhabdomyolyse à la fois dans l'armée et chez les athlètes de la *National Collegiate Athletic Association* (NCAA) des Etats Unis ont suscité de vives inquiétudes quant au risque potentiellement grave de l'exercice physique intense chez les PTDs. Bien que les explications de ces complications graves soient insatisfaisantes, plusieurs grandes études ont fourni des informations importantes.

### 1. Premières preuves : rapport de cas (annexe 1)

Les premiers cas répertoriés ont été rapportés par l'Armée Américaine, Jones et al (Jones et al., 1970a) décrivent quatre cas de mort subite à l'issue d'exercice réalisé à environ 4060 pieds (1234 m d'altitude) entre mars 1968 à février 1969. Ces individus âgés entre 19 et 21 ans ne présentaient aucun problème de santé hormis le TD.

Les rapports d'autopsie ont conclu sur « une crise drépanocytaire » liée à la falciformation intravasculaire initiée par un état hypoxique. De nombreux rapports de cas relatent des faits similaires survenant aussi bien dans des environnements spécifiques (altitude, chaud) que confortables (Kerle & Nishimura, 1996; Sateriale & Hart, 1985; Sherry, 1990; Zimmerman et al., 1974).

### 2. Tentatives de compréhension

#### a) *Etudes épidémiologiques : Incidence à l'exercice et TD*

Au regard des nombreux évènements tragiques remettant en cause le caractère asymptomatique du TD, certains auteurs se sont intéressés à la survenue des complications. La première grande étude à s'être intéressée au risque de mort subite chez les PTDs a été réalisée aussi chez les militaires de 1977 à 1981. Selon Kark et al (Kark et al., 1987) ***les taux de décès inexplicés étaient de 32.2/100 000 et 1.1/100 000 pour les recrues avec et sans TD respectivement***, suggérant pour la première fois que le risque de décès prématuré inexplicé à l'exercice chez les PTDs est plus élevé. Eckart et al (Eckart et al., 2004) ont rapporté que la mort subite à l'exercice en dehors des chocs ou traumatismes est rare.

Les morts subites non traumatiques sont attribuées dans la majeure partie des cas à une affection cardiaque non diagnostiquée au préalable. Ainsi, sur 126 décès non traumatiques identifiés au sein de l'armée américaine de 1977 à 2001, 64 étaient dues à une anomalie cardiaque identifiable (myocardite, cardiomyopathie hypertrophique, pathologies coronariennes) et 44 des 126 étaient idiopathiques. Les décès liés au TD étaient au nombre de 3 sur les 18 décès non-cardiaques.

Par la suite, Harmon et al (Harmon et al., 2012) ont montré que ***le risque de complication grave à l'exercice de 2004 à 2008 au sein de la NCAA était 37 fois plus élevé chez les athlètes PTDs comparativement aux autres athlètes.***

Récemment Nelson et al (Nelson et al., 2016) ont rapporté après un suivi de trois ans (2011 à 2014) de 50 000 recrues militaires, que le risque de décès n'était pas plus élevé chez les PTDs comparativement aux autres militaires. En revanche, ces auteurs ont montré que le risque de ***rhabdomyolyse d'effort restait plus important chez les PTDs comparativement aux autres militaires (RR 1.5)***. Bien que ces résultats contrastent avec ceux de Kark et al concernant le risque de mortalité chez les PTDs, il est intéressant de constater que le risque de rhabdomyolyse est resté plus élevé pour les PTDs malgré la mise en place de mesures sécuritaires et recommandations au sein de l'armée américaine effective depuis 1996.

Depuis 2010 ***un dépistage obligatoire a été mis en place pour les footballeurs de Division I*** et depuis 2012 il s'est élargi aux Divisions II et III, exclusivement aux Etats-Unis. En dépit des nombreuses controverses pour des raisons évidentes de stigmatisation, il a permis aux entraîneurs et aux cliniciens, de pouvoir adapter les entraînements et la prise en charge lors des complications (Naik & Haywood, 2015; O'Connor et al., 2021b). Récemment Buchanan et al (Buchanan et al., 2020) ont montré que le nombre de ***morts à l'exercice était réduit de 89 % après la législation entre 2000 et 2019 au sein de la NCAA***. Ainsi, cela démontre l'importance de ces études pour réduire les taux de décès et identifier les conditions propices à ces complications.

### b) *Un environnement propice identifié*

Les études menées au sein des institutions sportives et l'armée américaine, fournissent des informations pertinentes concernant les conditions de survenue de ces événements tragiques (Boden et al., 2020; Harmon et al., 2012; O'Connor et al., 2021). Certaines conditions telles que la période de pré-saison, les périodes les plus chaudes (mois d'août 83 °F/28.3 °C, 72% d'humidité), l'exercice de type aérobie de haute intensité avec répétition et une récupération incomplète, ainsi qu'un IMC supérieur à 32 kg/m<sup>2</sup> ont été reconnus comme facteurs propices à la survenue des complications à l'exercice chez les PTDs. L'augmentation des complications (effondrements à l'exercice, rhabdomyolyse) lors des périodes de fortes chaleur et humidité a souvent été confondu avec le coup chaleur. Cependant, récemment, certains auteurs ont montré que les PTDs ne présentaient pas un risque accru de coup de chaleur mais un surrisque de mortalité liée à un coup de chaleur comparativement aux non porteurs (Nelson et al., 2018 ; Singer et al., 2018). Autrement dit, c'est la survie liée au coup de chaleur qui cause un véritable problème chez les porteurs du trait drépanocytaire.

De plus, une nomenclature spécifique a été dédiée aux complications survenant à l'exercice chez les PTDs, nommée en anglais « *exercise collapse Associated with sickle cell trait* » *ECAST* (Asplund & O'Connor, 2016; Quattrone et al., 2015), afin de distinguer des autres complications non-traumatiques liées à l'exercice physique.

### c) *Etudes épidémiologiques : Prévalence du TD dans la population sportive*

En dépit des preuves démontrant qu'il existe un risque de complication grave à l'exercice chez les PTDs, plusieurs auteurs ont en parallèle rapporté que les PTDs avaient une prévalence au sein du milieu sportif semblable à celle rapportée dans population générale. La prévalence du trait a été déterminée dans diverses disciplines telles que le basket, le football, et l'athlétisme. Murphy et al (Murphy, 1973) ont montré que sur 579 joueur de la National Football League NFL 39 étaient PTDs et Diggs & Flowers (Diggs & Flowers, 1976) ont rapporté que sur 142 sportifs 10.2% étaient PTDs, autrement dit ces deux études ont montré que la répartition du TD était similaire à celle retrouvée dans la population générale, sachant qu'aux Etats-Unis la prévalence du TD est d'environ 8%. De plus, sur les deux années de suivi aucune complication chez ces joueurs n'a été observée.

Une série d'études menées en Afrique a rapporté des faits similaires à savoir une répartition des athlètes PTDs semblable à la population générale dans des activités de type athlétisme (Le Gallais et al., 1989, 1991, 1994 ; Thiriet et al., 1991).

De même, Hue et al (Hue et al., 2002) ont rapporté des faits similaires cette fois à l'échelle des Antilles. Ainsi, sur un total de 196 étudiants en STAPS (Sciences et techniques des activités physiques et sportives) environ 8.2 % étaient PTDs, ce pourcentage est similaire à la prévalence du TD dans la population Antillaise (8%). Ces mêmes auteurs se sont également intéressés au nombre de titres et de records chez les PTDs comparativement à la population générale.

#### Prévalence des titres et records remportés par les PTDs

Marlin et al (Marlin et al., 2005) ont montré que sur 16 sprinteurs Antillais sélectionnés sur l'année 2000, 3 d'entre eux étaient des PTDs. Le Gallais et al (Le Gallais et al., 1989) ont montré qu'il n'y avait pas de différence dans le pourcentage d'athlètes de niveau international avec une proportion de 25% chez les PTDs contre 25.7% pour les non PTDs, durant la période de 1956-89, en Côte d'Ivoire. De plus, Le Gallais et al (Le Gallais et al., 1991) ont montré que sur 129 détenteurs de titres (record/champions) 13 étaient PTDs. Ces 13 champions ont remporté au total 33 records nationaux avec une dominance pour les courses < 400 m (32 records). Bile et al ont montré que la répartition dans les records en sauts et en lancers était nettement supérieure au pourcentage du TD dans la population Ivoirienne (12%). Thiriet et al (Thiriet et al., 1994) ont rapporté que les PTDs présentaient des performances inférieures aux non PTDs durant la partie de la course à des altitudes allant de 3800 à 4095 m.

#### Ces données ont montré que :

- 1) *Les PTDs sont en mesure d'effectuer des épreuves physiques maximales et sous maximales sans problème systématique (entraînements et compétitions sportives).*
- 2) *Il existe des conditions propices à la survenue des complications (altitude, environnement chaud à l'effort, période de conditionnement pour les jeunes recrues militaires)*
- 3) *Certaines régions des Etats-Unis fournissent la plupart des informations à grande échelle notamment sur les conditions propices des complications survenant à l'exercice chez les PTDs. Il paraît essentiel de noter que cela est rendu possible en partie grâce à la politique de dépistage obligatoire. En France (comprenant les Antilles ou le TD représente une prévalence de 8% environ) aucun décès n'a été référencé mettant en cause le TD dans les bases de données à ce jour.*

### 3. Evaluation des aptitudes physiques chez les PTDs

En parallèle des études épidémiologiques, une poignée d'auteurs se sont intéressés à la capacité physique des PTDs. Comme la plupart des protocoles ont été conduits en laboratoire, la consommation maximale en oxygène, les seuils ventilatoires, la fréquence cardiaque maximale et la lactatémie ont été mesurés pour apprécier l'adaptation métabolique et les capacités cardio-respiratoires. La majorité de ces études ont démontré que les PTDs sédentaires, moyennement-entraînés et bien entraînés développent des niveaux de performances semblables aux individus à hémoglobine normale (annexe 4).

Quelques particularités apparaissent dans certaines modalités d'exercice, mais ne semblent pas systématiques. Bien que des explications potentielles ont été émises, des zones d'ombre persistent. Hue et al ont montré que les PTDs actifs mais non spécialistes du saut avaient des performances supérieures au saut vertical que leurs homologues non PTDs. Ces résultats vont de pair avec ce qui est observé en amont chez les PTDs spécialistes de la discipline puisque le nombre de titres remportés et leur prévalence dans ces types d'activités en témoignent (Bilé et al., 1998). Récemment, Webber et al (Webber et al., 2018) ont de nouveau apporté la preuve que les hommes PTDs (2161 jeunes recrues militaires) comparés aux autres recrues présentaient des performances anaérobies supérieures avant et après un entraînement militaire de 6 semaines. Selon cette même étude, les PTDs présentaient des performances inférieures pour un exercice aérobie (1.5 km) comparativement à leurs homologues non PTDs. Après une période de 6 semaines d'entraînement, les PTDs présentaient une progression supérieure aux non PTDs, bien que leur performance fût toujours plus basse. Ceci suggère que la pratique physique régulière est en mesure de réduire les écarts, voire de les faire disparaître, comme rapporté par Weisman et al (Weisman et al., 1988) après 7 semaines d'entraînement militaire. D'où le fait que certains auteurs n'aient pas observé de différence entre les PTDs et non PTDs à la suite d'un exercice.

#### **Potentielles explication de ces faits**

Une explication probable liée aux performances supérieures dans les activités anaérobies et inférieures dans l'activité aérobie, serait en lien avec une perte de l'efficacité du métabolisme aérobie liée à la diminution de l'affinité de l'HbS pour l'oxygène, et à la sur-sollicitation du métabolisme anaérobie.

L'étude de Vincent et al (Vincent, et al., 2010) a montré que les PTDs actifs avaient une activité significativement plus faible de certaines enzymes oxydative (Cytochrome c oxydase) au sein des fibres de type (IIa). De plus, la surface des fibres de type (IIx) avait tendance à être plus élevée chez les PTDs comparativement aux CTLs, sachant qu'une plus grande surface de section est corrélée à l'augmentation des performances de types explosives (Hautier et al., 1996). Ces données contribueraient à expliquer leur performance supérieure pour les activités explosives et la moindre performance dans les activités aérobies, si ces différences étaient plus marquées. Néanmoins, selon cette même étude, l'activité des enzymes glycolytiques et les performances n'étaient pas différentes entre les participants (PTDs et CTLs).

D'autres auteurs ont rapporté que les PTDs actifs présentaient plus de transporteurs monocarboxylate (MCT-1) et une performance similaire entre les PTDs et les non PTDs actifs (Sara, et al., 2006). L'augmentation de ces transporteurs révèle une capacité accrue de production d'ATP par la sollicitation de la glycolyse (métabolisme anaérobie) et pourrait jouer un rôle important dans le maintien du pH intramusculaire (Juel et al., 2003), ce qui empêche l'inhibition de la glycogénolyse induite par un faible pH pendant l'exercice (Juel et al., 2003). Ainsi cela permettrait probablement aux PTDs de compenser leur déficit du métabolisme aérobie et de maintenir des niveaux de performances équivalents aux non PTDs, dans certaines modalités d'exercice. L'augmentation des transporteurs de lactate servirait également à réguler le pH intracellulaire et indirectement permettrait d'éviter l'acidose. Néanmoins plusieurs zones d'ombre persistent, d'ailleurs il est fort probable que les tests incrémentaux n'aient pas été suffisants pour exacerber le métabolisme anaérobie dans la plupart des études chez les PTDs (*ensemble résumé en annexe 4*).

Pour mieux cerner les adaptations à l'exercice, l'activité des enzymes impliquées dans les différentes filières énergétiques devrait être étudiée durant le processus de l'entraînement chez les PTDs.

La sollicitation accrue de la glycogénolyse pourrait favoriser la diminution du pH sanguin et l'acidose métabolique, notamment lorsque les PTDs ne sont pas bien entraînés. D'ailleurs, l'acidose métabolique a souvent été retrouvée et décrite dans les nombreux rapports d'autopsie chez les PTDs. L'augmentation des MCT-1 permettrait entre autres d'éviter l'accumulation des protons d'hydrogène responsables de l'acidose ; ceci a été observé chez les PTDs entraînés, suggérant qu'avec l'entraînement ces derniers bénéficient d'une adaptation, capable de compenser le métabolisme aérobie déficient.

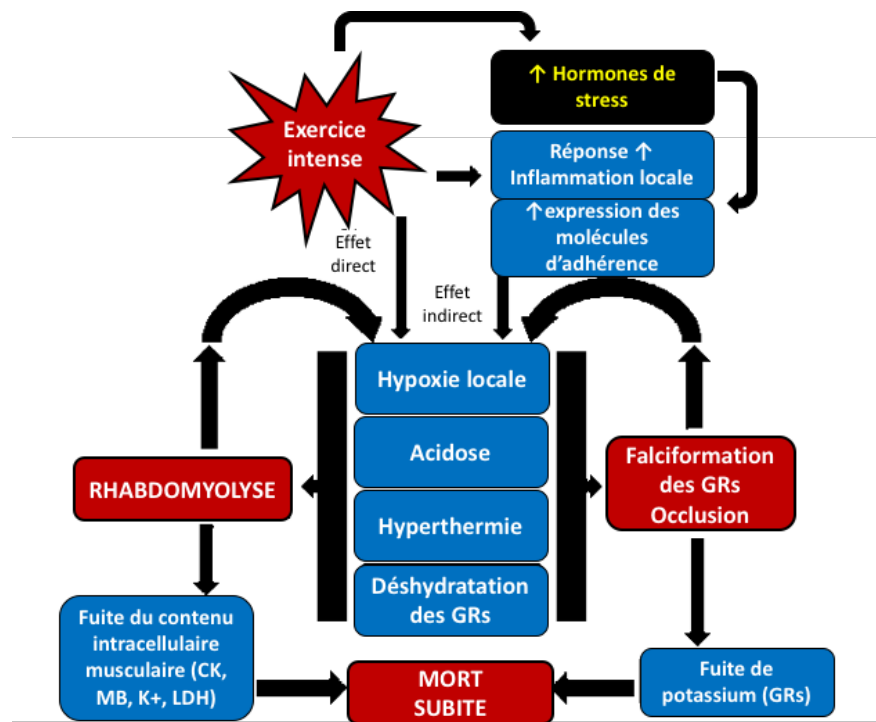


#### 4. Physiopathologie des complications à l'exercice chez PTDs

##### *De l'effondrement à l'exercice au décès chez les PTDs : Modèle putatif de la physiopathogénèse (figure 25)*

Le modèle physiopathologique de l'*ECAST* proposé par Loosemore (Loosemore et al., 2012) sur la base des nombreux rapports de cas, implique la falciformation des GRs via quatre facteurs principaux liés à la situation d'exercice : l'acidose lactique, la déshydratation des GRs en circulation, l'hyperthermie des muscles en activité, l'hypoxie tissulaire. Il est possible que ces quatre éléments simultanés aient conduit aux phénomènes occlusifs observés post-mortem. De la même manière, il a été montré que l'influx d'épinéphrine est en mesure d'augmenter l'adhésivité entre les GRs altérés et l'endothélium via la liaison BCAM/Lu-laminine et ICAM-4- $\alpha_v\beta_3$  (Maciaszek et al., 2012). Bien qu'ils ne l'aient pas montré dans le cadre de l'exercice, ces auteurs ont suggéré que l'augmentation de la stimulation sympathique à l'exercice puisse accroître l'adhérence des GRs des PTDs. L'ensemble de ces événements aurait deux rôles majeurs : (1) fournir des conditions défavorables capables d'accélérer la polymérisation des HbS et (2) créer la stase vasculaire, autrement dit le ralentissement du transit des GRs probablement rigides et altérés dans les réseaux microvasculaires musculaires, causant ainsi une destruction massive du tissu musculaire (Rhabdomyolyse).

La rhabdomyolyse se traduit littéralement par la « lyse » soit la destruction du tissu musculaire, conduisant à la libération des composants intracellulaires au sein de la circulation sanguine. Ainsi, la myoglobine, la créatine kinase (CK), l'aldolase, la lactate déshydrogénase (LDH) et les électrolytes se retrouvent alors libres dans l'espace extracellulaire et vasculaire. La rhabdomyolyse est causée dans la plupart des cas par des traumatismes physiques musculaires, liés à une pratique intensive. Elle peut être également causée par un coup de chaleur ou une défaillance métabolique (Heard & Barker, 2016). L'accumulation de la myoglobine peut conduire à une insuffisance rénale transitoire avec la possibilité d'aggravation vers un état chronique (Petejova & Martinek, 2014). De plus, la fuite des électrolytes comme le potassium peut causer une arythmie cardiaque potentiellement mortelle. La RE est déclarée lorsqu'il y a une hématurie, que les sujets concernés se plaignent de faiblesses et douleurs musculaires sévères. La mesure de la créatine kinase sérique (CK) est une partie importante pour diagnostiquer la RE. (Khan, 2009 ; Zimmerman & Shen, 2013).



**Figure 25** Modèle putatif de la physiopathogénèse de la mort subite à l'exercice chez les PTDs, schéma adapté de (Loosemore et al., 2012)

Les paragraphes ci-dessous décrivent, les facteurs et les mécanismes potentiels à l'origine des complications à l'exercice chez les PTDs.

### a) Paramètres hémorhéologiques

#### (1) Effet de l'exercice : profil normal

La rhéologie sanguine participe à la régulation de la perfusion tissulaire au repos comme à l'exercice. L'augmentation de la viscosité sanguine observée à l'exercice est attribuable à plusieurs mécanismes complexes, induits principalement par l'augmentation de la viscosité plasmatique et à l'expansion de l'hématocrite (Brun et al., 1998 ; Connes et al., 2013 ; Nader et al., 2019). La perte d'eau liée à l'exercice par la sollicitation des processus thermorégulateurs et l'élévation de la concentration des protéines plasmatique qui régulent la pression osmotique (le fibrinogène, les 1-globulines, les  $\alpha$ 2-globulines, les  $\beta$ -globulines) accroissent la viscosité plasmatique (Brun et al., 2010 ; Ernst et al., 1991 ; Vandewalle et al., 1988).

La redistribution des GRs dans la circulation et la contraction de la rate par l'exercice augmentent le nombre de GRs circulants, augmentant ainsi, l'hématocrite et la viscosité sanguine (Shephard, 2016).

Bien que souvent considérée comme un élément négatif, l'augmentation de la viscosité à l'exercice participe à la production endothéliale de NO. En effet, l'augmentation des contraintes de cisaillement des cellules sanguines contre l'endothélium stimule la production du NO par la eNOS (Connes et al., 2012), permettant ainsi d'initier la vasorelaxation des CMLVs nécessaire à la perfusion des muscles actifs. Cette augmentation permet aussi de compenser l'augmentation de la viscosité. Dans le cas où il existerait un dysfonctionnement vasculaire lié à la réduction du NO, l'augmentation de la viscosité pourrait entraver l'écoulement sanguin par l'augmentation des résistances vasculaires.

Néanmoins il semble que ces observations ne soient pas systématiques, et que les variations de la viscosité sanguine sont dépendantes du type d'exercice réalisé. Plusieurs auteurs ont constaté que les exercices de types course à pied (marathon, 10km) n'entraînent pas nécessairement d'augmentation de la viscosité sanguine, indépendamment des conditions dans lesquelles ces exercices sont réalisés (Neuhaus et al., 1992 ; Tripette et al., 2011). Les auteurs ont suggéré que la répétition de l'attaque du pied au sol maintienne l'hématocrite à des niveaux stables par l'accroissement de l'hémolyse. L'étude comparative de Nader et al (Nader et al., 2018) a confirmé les différences observées en fonction du type d'exercice avec une augmentation de la viscosité lors d'un exercice de pédalage et pas de changement après une course sur tapis. Cependant, ils n'ont pas observé d'accroissement de l'hémolyse, mais une augmentation de la déformabilité des GRs, les auteurs ont conclu sur un effet compensatoire face à l'augmentation de l'hématocrite. La capacité de déformabilité des GRs est cruciale pour le passage au travers des capillaires de moins larges diamètres que ces cellules. Elle constitue un déterminant majeur de la viscosité sanguine. Ces mêmes auteurs ont observé des faits similaires à la suite d'une course de 10 km, à savoir aucune variation de la viscosité et une amélioration de la déformabilité des GRs (Nader et al., 2020). L'augmentation de la déformabilité des GR peut diminuer la résistance à l'écoulement et améliorer la perfusion et l'oxygénation des tissus (Parthasarathi & Lipowsky, 1999).

D'autres facteurs sont également responsables de la variabilité des paramètres hémorhéologiques à l'exercice, par exemple Tripette et al (Tripette et al., 2010) ont rapporté après un exercice de pédalage de 40 min que la viscosité sanguine en dépit de l'augmentation observée à l'issue de l'exercice était diminuée durant la récupération lorsque les participants PTDs consommaient de l'eau ad libitum durant l'effort. Ainsi cette étude fournit des preuves selon lesquelles le maintien d'une bonne hydratation est favorable pour corriger les perturbations hémorhéologiques observables chez les PTDs à l'exercice.

### ***Propriétés dynamiques des GRs à l'exercice***

En dehors de l'augmentation de la viscosité plasmatique et de l'expansion de l'hématocrite, les propriétés des GRs peuvent moduler la viscosité sanguine. L'exercice de haute intensité s'accompagne de l'augmentation de lactate et surtout d'ions d'hydrogène intracellulaire, qui sont en mesure de déséquilibrer la bicouche phospholipidique des GRs menant à leur déshydratation et leur rigidification (Connes et al., 2013; Smith et al., 1997). Ainsi, ces derniers deviennent moins déformables (Brun et al., 1998; Connes et al., 2013; Nader et al., 2019b; Nemkov et al., 2021). Le stress oxydatif amplifié à l'exercice d'endurance participe également aux désordres intracellulaires par oxydations protéiques et lipidiques de la membrane des GRs participant ainsi à la réduction de la déformabilité (Nemkov et al., 2021; Yalcin et al., 2003). Il convient de noter, que même chez les personnes entraînées, l'exercice intense amplifie la production de lactate sanguin et de stress oxydatif, et par conséquent entraîne également une réduction de la déformabilité des érythrocytes. Cependant la répétition du stress de l'exercice renforce les défenses anti-oxydantes qui contribuent à réduire les altérations tissulaires musculaires.

L'effet de l'exercice sur l'agrégabilité érythrocytaire fait davantage l'objet de controverses. Certains auteurs rapportent une augmentation survenant durant la récupération tardive qui va de pair avec l'augmentation du fibrinogène des taux de leucocytes et leurs activations (Ernst, 1987; Senturk et al., 2005). Cependant, d'autres au contraire rapportent le schéma inverse soit une diminution (Yalcin et al., 2003). L'hétérogénéité de ces résultats réside probablement dans les modalités d'exercice et l'état de santé de ceux qui pratiquent. Les personnes bien entraînées présentent une diminution d'agrégabilité des GRs (Senturk et al., 2005).

(1) De l'état basal à l'effet de l'exercice : chez les PTDs

Il est apparu que les porteurs du trait présentaient une viscosité sanguine accrue par rapport à leurs pairs non porteurs aussi bien au repos qu'après un exercice et des performances similaires (Connes et al., 2006a; Connes et al., 2006; Connes et al., 2008; Monchanin et al., 2005; Tripette et al., 2010).

Il semblerait que cette tendance de viscosité accrue soit soutenue principalement par le changement des paramètres micro-rhéologiques des cellules sanguines. En effet, peu de différences ont été relatées quant au taux d'hématocrite et de viscosité plasmatique (Monchanin et al., 2005). De plus, il se pourrait que la réduction de la déformabilité des érythrocytes et une tendance d'agrégation plus importante participent à l'accroissement de la viscosité chez les PTDs (Ambrus et al., 1987 ; Brandão et al., 2003 ; Obiefuna, 1991 ; Reid & Obi, 1982). Bien que les mécanismes aboutissant à un tel résultat ne soient pas bien connus, il a été suggéré que l'activité supérieure chez les PTDs des MCT-1 entraînerait une déshydratation des érythrocytes contribuant ainsi à leur moindre déformabilité (Connes et al., 2005). L'altération de la déformabilité des GRs entraîne une perturbation du flux sanguin et entrave les structures vasculaires.

Comme nous l'avons décrit en amont, l'augmentation de la viscosité sanguine chez ces derniers accentuée avec l'exercice, peut être corrigée par un apport hydrique pendant un exercice sous maximal de longue durée (40-45 min). Bien qu'il ne supprime pas les perturbations hémorhéologiques la viscosité sanguine retrouve des valeurs semblables à celles des non PTDs (Diaw et al., 2014; Tripette et al., 2010). Ces faits sont intéressants à considérer car c'est dans la période qui suit l'exercice que les événements graves surviennent (Anzalone et al., 2010 ; Quattrone et al., 2015; Thogmartin et al., 2011).

## b) Balance pro/anti-oxydante

### (1) Effet de l'exercice : profil normal

L'activité physique est également un modulateur du stress oxydatif. Son action est paradoxale, il agit en tant que stimulateur, pour ensuite être modérateur selon le phénomène *d'hormèse* (Radak et al., 2008; Tryfidou et al., 2020).

L'exercice physique, plus particulièrement de type aérobie s'accompagne comme toute activité nécessitant l'augmentation de la consommation en oxygène de la surproduction d'EROs. Pour faire face à l'importante demande énergétique (sous forme d'ATP) utilisable par les cellules musculaires, il se produit un important flux d'électrons au niveau de la chaîne de respiration mitochondriale.

La redistribution du débit cardiaque, depuis les territoires splanchniques et rénaux vers les territoires musculaires actifs, participe également à la surproduction de EROs par le phénomène d'ischémie/reperfusion (Peake & Suzuki, 2004). L'hypoxie momentanée suivie de la ré-oxygénation de fin d'exercice entraîne un important flux de EROs via l'activation de la xanthine oxydase (XO) (Clanton, 2007). De plus, l'activation de cellules immunitaires telles que les neutrophiles et les lymphocytes pendant l'exercice, en raison de lésions des tissus musculaires, peut encore augmenter la production de superoxyde (Walsh et al., 2011). Les neutrophiles libèrent une enzyme (la myelopéroxidase MPO), qui catalyse certaines espèces telles que l'acide hypochloreux (HOCL). L'accumulation de cette enzyme peut contribuer à la production de EROs (Peake & Suzuki, 2004).

Concernant les défenses anti-oxydantes à l'exercice, certains ont rapporté une augmentation (Alessio et al., 2000; Berzosa et al., 2011; Michailidis et al., 2007; Nikolaidis et al., 2007), d'autres une diminution ou encore pas de changement (de Sousa et al., 2017). Au-delà des modalités et du type d'exercice, la méthode employée, fait varier et contribue à expliquer la diversité des observations (Michailidis et al., 2007). On suppose que la quantification de l'activité de certaines enzymes de première ligne de défenses anti-oxydantes seraient plus sensibles que l'évaluation des taux plasmatiques.

L'augmentation de l'activité des enzymes telle que SOD, CAT et la GPX a été observée immédiatement après un exercice bref et intense (Berzosa et al., 2011), contrairement à un exercice de longue durée qui abaisse la capacité anti-oxydante (Sureda et al., 2005). Le prolongement de l'exercice entraîne une augmentation des EROs par la sollicitation grandissante du métabolisme oxydatif, ce qui rendrait la capacité anti-oxydante inefficace. Une activité physique plus courte ne laisse pas le temps de l'accumulation des radicaux libres. De plus, l'entraînement en endurance constitue un élément favorable au renforcement de la capacité anti-oxydante (de Sousa et al., 2017). Les individus ayant une bonne condition physique réduisent la production de EROs et maintiennent un équilibre redox.

## (2) De l'état basal à l'effet de l'exercice : chez les PTDs

En dépit des preuves existantes au sein de la littérature, il n'est pas simple de comprendre si les PTDs présentent un stress oxydatif accentué.

Chez l'homme à l'état physiologique aucune observation dans le sens d'un stress oxydatif augmenté n'a été signalée, contrairement aux patients drépanocytaires qui présentent un stress oxydatif accru même à l'état de base et qui s'amplifie lors des crises vaso-occlusives. D'ailleurs, l'augmentation des EROs a été associée à la gravité clinique chez ces derniers (Hierso et al., 2014 ; Renoux et al., 2018). En ce qui concerne les PTDs les preuves existantes concernent la réponse à l'exercice (Chirico et al., 2012, 2016 ; Das et al., 1993 ; Faës et al., 2012 ; Tripette et al., 2010). Pour rappel, c'est dans ces conditions qu'il est plus probable d'avoir un stress oxydatif élevé potentiellement délétère pour les PTDs.

Pour quantifier le taux d'oxydation lipidique les MDAs ou TBARs sont dosés et pour l'oxydation protéique les AOPPs ou les protéines carbonylées sont dosées. Ces biomarqueurs permettent d'apprécier les dommages infligés aux composés cellulaires par les radicaux libres.

En principe, leur augmentation est un signe d'altération causé par un stress oxydant accru. L'activité des enzymes pro-oxydantes peut être quantifiée, il est également possible de mesurer directement les radicaux libres néanmoins cette mesure reste compliquée en raison du caractère éphémère des radicaux libres et du coût de la technique.

Faes et al (Faës et al., 2012), ont montré que les PTDs actifs présentaient des taux AOPP immédiatement post-exercice plus élevés et des taux de MDA seulement durant la récupération comparés aux PTDs alpha-thalassémiques, aucune différence entre les PTDs n'a été observée concernant l'activité enzymatique anti-oxydante (SOD, CAT, GPx) entre les PTDs et les autres participants. Tripette et al., (Tripette et al., 2010) ont également observé une tendance des TBARS à être supérieurs durant la récupération chez les PTDs comparée aux CTLs sans que cela n'ait été suffisant pour altérer les défenses anti-oxydantes.

*A contrario*, Das et al (Das et al., 1993) ont observé une activité accrue de la SOD intra-érythrocytaire pendant l'exercice et immédiatement après l'arrêt, qui était diminuée durant la période de récupération, chez les PTDs comparés aux CTLs. L'activité de la GPx était également diminuée au repos chez les PTDs comparé aux CTLs, suggérant ainsi que le stress oxydatif accru chez les PTDs généré par l'exercice aurait submergé les défenses anti-oxydantes au sein même des GRs. La divergence avec les résultats de Faes et al réside certainement dans la différence des compartiments étudiés. On peut supposer que Das et al (Das et al., 1993) ont été plus sensibles dans la mesure où ils ont rapporté une activité enzymatique intracellulaire et non plasmatique comparativement à Faes et al (Faës et al., 2012).

Il existe également quelques preuves concernant l'accroissement du stress nitrosatif et l'altération du métabolisme du NO chez les porteurs du trait. L'étude de Faes et Tripette et al (Faës et al., 2012) a montré une augmentation de produits nitrosyles et une tendance à la diminution du NO chez les PTDs, à l'exercice comparé aux non PTDs et aux alpha-thalassémiques. Ces données montrent qu'il existe potentiellement un stress oxydatif accru chez les PTDs mais dans une bien moindre mesure que les patients drépanocytaires. On peut supposer que les altérations hémorhéologiques liées à la présence de l'HbS s'amplifient avec les traumatismes de l'exercice sans poser des complications irréversibles.

Cependant, le manque de données limite l'interprétation pour pouvoir conclure à quel point l'exercice altère la balance pro/antioxydants dans cette population.



c) *Inflammation/adhérence*

(1) Effet de l'exercice : profil normal

L'augmentation du débit sanguin et de la viscosité pendant l'exercice entraîne une augmentation des contraintes de cisaillement contre la surface endothéliale. L'augmentation de ces contraintes entraîne l'activation des cellules endothéliales (Moldoveanu et al., 2001). Le stress oxydatif et adrénérgique joue un rôle dans la réponse inflammatoire à l'exercice, en stimulant les molécules d'adhérence et le recrutement des leucocytes faisant augmenter leur concentration plasmatique.

Selon la littérature actuelle, leur ampleur serait influencée par l'intensité et la durée de l'exercice. La récente méta-analyse de Koh et al (Koh & Park, 2018) a montré que l'exercice d'intensité faible à modérée, peut entraîner une diminution de l'expression des molécules d'adhérence cellulaire. Cependant, dans la plupart des cas ce type d'exercice n'entraîne pas nécessairement de changement. *A contrario*, l'exercice de haute intensité à savoir > 70%  $\dot{V}O_{2max}$  a été plus souvent associé à une augmentation des P-sélectines, L-sélectines, neutrophiles et plaquettes, et ICAM-1s et VCAM-1s bien que certains n'ont pas observé de changements (Koh & Park, 2018). Néanmoins, chez les personnes saines et entraînées, les niveaux de base sont retrouvés dans les heures qui suivent l'arrêt de l'exercice (1h à 2h) (Aufradet et al., 2010 ; Monchanin et al., 2007). Excepté lorsque cela concerne des exercices traumatisants, tels que les ultra-marathons ou marathons, les niveaux de ICAMs diminuent 48h après l'exercice (Bartzeliotou et al., 2007). Une relation corrélative positive a été mise en évidence entre l'augmentation de la  $\dot{V}O_{2max}$  et la diminution des ICAM-1 et VCAM-1 chez des patients atteints d'insuffisance cardiaque chronique stable (Adamopoulos et al., 2001), montrant ainsi que l'entraînement était en mesure de diminuer l'expression de ces molécules. L'augmentation des molécules d'adhérence n'est pas toujours le signe de lésions accentuées, mais pourrait être le reflet de la perte d'adhérence des molécules contre la paroi endothéliale, face à l'augmentation des contraintes de cisaillement induit par l'hémoconcentration (Arber et al., 1991 ; Smith et al., 2000). Chez les personnes saines cela ne représente pas un réel danger car cette augmentation n'est pas toujours observée et aura tendance à diminuer dans les heures qui suivent l'exercice et avec le statut d'entraînement.

Cependant, pour certaines populations telles que les PTDs qui présentent déjà des niveaux un peu plus élevés à l'état basal, l'augmentation supplémentaire liée à l'exercice de haute intensité pourrait contribuer à augmenter l'adhérence vasculaire et la survenue des phénomènes CVOs dont les PTDs peuvent être parfois victimes.

## (2) De l'état basal à l'effet de l'exercice : chez les PTDs

L'augmentation de l'adhérence des cellules immunitaires à l'endothélium par les molécules d'adhérence (VCAM, ICAM-1, selectines P, E ect) réduit la lumière vasculaire, ralentit le transit des GRs, favorise la polymérisation de HbS ce qui pourrait entraîner une occlusion au sein de la microcirculation. Ces éléments caractérisent l'état inflammatoire dans la drépanocytose, et participent activement aux phénomènes mécaniques des CVOs (Nader, Romana, & Connes, 2020; Nader, Conran, et al., 2021).

Chez les PTDs, Duits et al (Duits et al., 1996) n'ont pas observé de différences sur les facteurs suivants : IL6, TNF-alpha, ICAM et VCAM comparés aux personnes saines à l'état basal. D'autres auteurs ont également fait le même constat à l'état de base (Amin et al., 2015 ; Tripette et al., 2010). Contrairement à Monchanin et al (Monchanin et al., 2008) qui ont montré que le taux de VCAM était plus élevé chez les PTDs comparé aux CTLs et PTDs/alpha-thalassémique à l'état de base et restait supérieur après un exercice de 60 min à 70 % Ppic. Ces résultats ne peuvent pas être expliqués sur la base des éléments étudiés par ces auteurs, puisque le TNF-alpha connu pour réguler l'expression des VCAM est resté inchangé en réponse à l'exercice et au statut hémoglobinémique. De plus, un exercice modéré n'entraîne pas nécessairement d'augmentation de ces marqueurs même chez des personnes présentant des troubles cardiovasculaires (Koh & Park, 2018). Une potentielle explication serait que la stimulation des VCAM ait été induite par d'autres cytokines pro-inflammatoires comme IL-13, IL-1, IL-4 ou par un stress oxydatif accru. La clairance du TNF- alpha serait augmentée ou que son action a pu être diminuée par d'autres cytokines anti-inflammatoires IL-6, d'où le fait qu'ils n'aient pas observé d'augmentation de ce facteur (Granel et al., 2007 ; Kong et al., 2018).

Ces résultats ne corroborent pas avec ceux de Tripette et al et Vincent et al (Tripette, et al., 2010a,b; Vincent et al., 2010) qui n'ont pas observé de différences entre les PTDs et les nonPTDs après un simple ou une succession d'exercices de haute intensité sur les paramètres suivants : ICAM VCAM et TNF- alpha.

En dépit de la réponse inflammatoire aiguë induite par l'exercice et une condition physique des participants similaire à la population de Monchanin et al (Monchanin et al., 2008) ils n'ont pas observé d'augmentation plus importante des VCAMs.

Tripette et al ont observé des taux de P-sélectines plus élevés chez les PTDs comparés aux non PTDs, montrant ainsi que les PTDs en réponse à l'exercice maximal pourraient présenter une réponse inflammatoire soutenue par rapport aux non PTDs, ces différences restent faibles et ne suffiraient pas à déclencher des phénomènes vaso-occlusifs.

#### d) *Perfusion tissulaire à exercice*

##### (1) Effet de l'exercice : profil normal

L'exercice modéré à maximal induit d'importants changements cardiovasculaires pour permettre à l'organisme de s'adapter à sa nouvelle situation, on note une différence en fonction du territoire considéré. Ainsi dès le début de l'exercice le flux sanguin augmente faisant au niveau des territoires actifs (muscles), de manière dépendante à l'intensité de l'exercice. Cette réponse s'accorde avec la demande métabolique qui augmente à mesure que l'exercice se poursuit (Green et al., 2017). L'augmentation du débit sanguin de ces zones actives provoque une diminution dans d'autres zones moins actives ou inactives à l'exercice (splanchniques certaines zones cutanées) le système nerveux autonome induit une vasoconstriction afin de redistribuer le débit cardiaque vers les territoires musculaires actifs prioritaires. A mesure que l'exercice se prolonge et que la température interne augmente jusqu'à un certain seuil, le débit sanguin cutané augmente à son tour pour faciliter la déperdition de chaleur métabolique (Simmons et al., 2011). On parle de vasodilatation active, médiée par la branche cholinergique sympathique observable uniquement au niveau de la peau velue. La fin de l'exercice peut être marquée de l'augmentation du flux sanguin au niveau des territoires cutanés pour évacuer la chaleur résiduelle afin de retrouver une température interne au seuil.

##### *Du point de vue de la microcirculation cutanée*

Au niveau de la microcirculation cutanée, il existe différents types de réponses à l'exercice, pendant et après ce dernier (Johnson, 1992; Kenney & Johnson, 1992). Ces différences proviennent en partie des structures qui les composent et leurs régulations. La pulpe des doigts (zone mesurée) est dominée par des AVAs comme la plupart des zones de peau glabre (Romanovsky, 2014b). Leur faible longueur et leur grand diamètre contribuent fortement au transfert rapide de grandes quantités de sang dans le circuit veineux (Walløe, 2016).

Entièrement sous le contrôle des nerfs noradrénergiques, elles se ferment via des impulsions sympathiques actives. Leur ouverture dépend d'un phénomène passif de retrait de l'activité constrictrice du contrôle sympathique (Johnson et al., 2014 ; Walløe, 2015).

Les preuves existantes convergent vers la diminution de la perfusion cutanée glabre par l'action des mécanismes centraux sympathiques accrue durant cette période (Kitamura et al., 1982 ; Potočnik & Lenasi, 2016 ; Saad et al., 2001).

Puis au moment de la récupération la perfusion dans la peau glabre retrouve des valeurs de repos, par la diminution des impulsions sympathiques. Le schéma plutôt inverse est observé au niveau de la peau velue, qui augmente à mesure que la charge de travail augmente à l'exercice, et qui tend à diminuer à mesure que l'organisme retrouve son équilibre thermique au moment de la récupération (Green et al., 2017 ; Potočnik & Lenasi, 2016 ; Simmons et al., 2011).

Il est bien admis que le stress de cisaillement est un signal principal dans la médiation de l'adaptation vasculaire induite par l'exercice et est un acteur clé dans la prévention de la dysfonction endothéliale et des maladies cardiovasculaires (Laughlin & McAllister, 1992). Sur la base des modèles proposés par Zhang les changements en amplitude et fréquence du shear stress induisent des changements d'expression de gènes. L'accroissement de l'amplitude du shear stress favorise principalement l'expression d'un ensemble de gènes anti-inflammatoires et antioxydants (Zhang & Friedman, 2012), alors que l'accroissement de la fréquence du shear stress favorise l'expression de gènes favorables à l'angiogenèse (Zhang & Friedman, 2013). Ces gènes participent aux adaptations chroniques liées à l'entraînement.

Le flux sanguin est régulé localement par le système nerveux autonome et par la libération de substances vasoactives (Johnson et al., 2014). L'augmentation des forces de cisaillement par l'accroissement de la pression artérielle aura un effet potentialisateur sur la voie de la eNOS.

Ainsi, l'exercice augmente les mouvements de mécanotransduction contre les cellules endothéliales qui stimulent à leur tour l'activation et l'expression de la eNOS favorable pour la production du NO et à vasorelaxation des CMLVs d'où l'importance de l'augmentation de la viscosité à l'exercice.

## (2) l'effet de l'exercice : chez les PTDs

Concernant les adaptations fonctionnelles microvasculaires à l'exercice, aucune donnée n'est disponible à ce jour chez les PTDs. Pourtant, des observations suggèrent en effet une perfusion tissulaire potentiellement altérée. Tripette et al et Faes et al ont en effet montré que le principal facteur de la vasodilatation le NO était réduit chez les PTDs.

Dans la plupart des cas l'exercice aigu produit des effets immédiats dans le sens d'une amélioration fonctionnelle alors que la répétition d'exercice produit un stress régulier ayant pour conséquence des adaptations fonctionnelles et structurelles chroniques (Green et al., 2017). Vincent et al (Vincent et al., 2010 ; 2012) ont mis en évidence des adaptations structurelles microvasculaires chez les PTDs sédentaires et entraînés. Ils ont montré que les PTDs présentaient une densité et une tortuosité capillaire plus faible. Selon cette étude le TD était associé à un pourcentage et un nombre réduits des capillaires les plus étroits (<5  $\mu\text{m}$ ) et à un pourcentage et un nombre plus élevés de microvaisseaux plus larges (>10  $\mu\text{m}$ ), suggérant de potentiels changements dans la fonction vasculaire.

Bien que les mécanismes explicatifs restent flous, il est possible que la rhéologie sanguine particulière ait pu contribuer à détériorer les vaisseaux. On peut supposer également que les évènements vaso-occlusifs silencieux aient pu contribuer à la régression de certains capillaires par manque d'oxygénation. Dans ce cas l'augmentation du calibre des vaisseaux faciliterait le passage des GRs plus rigides. Dans ce sens, on pourrait s'attendre dans une bien moindre mesure aux phénomènes observables dans la drépanocytose. Une perfusion à l'état basal émoussée et une perte de réserve vasomotrice, ce qui traduirait une altération vasculaire.

## 5. Entraînement et TD

« ***L'entraînement physique*** » fait référence à une activité ou un exercice physique régulier structuré dans le but d'améliorer et ou de maintenir la forme physique et le bien-être aboutissant à un nouvel état d'équilibre, permettant de contrecarrer les effets potentiellement délétères de l'exercice aigu.

Il n'existe pas réellement d'étude interventionnelle sur l'effet de l'entraînement chez les PTDs, exceptées celles effectuées chez les militaires (Webber et al., 2018 ; Weisman et al., 1988). Ces études convergent toutes deux vers une amélioration des performances chez les PTDs.

Quelques études transversales menées en laboratoire ont comparé l'effet de l'entraînement sur certains marqueurs, décrits précédemment. Chirico et al (Chirico et al., 2012a) ont montré que le stress oxydatif diminuait chez les PTDs entraînés comparativement aux PTDs sédentaires (AOPP), et parmi les entraînés PTDs et CTLs aucune différence n'a été observé. Des résultats semblables ont été observés par Aufradet et al (Aufradet et al., 2010) sur les molécules d'adhérence (VCAM). De même, pour la rigidité artérielle qui a été diminuée avec l'entraînement comparativement aux PTDs sédentaires (Ouédraogo et al., 2018). Dans ces études les PTDs entraînés présentaient des performances semblables aux personnes à hémoglobine normale entraînés et plus élevées que les PTDs sédentaires. Ces données prises collectivement suggèrent que l'entraînement physique permettait aux PTDs de réduire le risque de complication.

D'autres études interventionnelles permettraient de mieux cerner les mécanismes d'adaptation en lien avec ces changements structurels.

## B. Exercice en environnement chaud

L'homme en tant qu'homéotherme, doit pour sa survie maintenir sa température centrale (noyau) constante et ce malgré les grandes variations des conditions environnementales et/ou des niveaux d'activités physiques. Sa température centrale optimale est comprise autour de 37 °C, ce qui correspond aux meilleures conditions pour le bon fonctionnement des organes internes (cerveau, foie etc). La température centrale est généralement régulée dans un intervalle étroit allant de 35.7 °C à 37.3°C (Obermeyer et al., 2017). Ses fluctuations normales de 0.5 °C à 1.0 °C se produisent tout au long de la journée (rythme circadien), du mois (cycle menstruel) et de la vie (vieillesse) (Baker et al., 2020; Weinert & Waterhouse, 2007). On note un pic au moment du coucher, et un nadir vers 1h à 4h du matin. La température diminue avec l'avancée en âge et augmente durant la phase lutéale. Afin de maintenir cette température au seuil l'homme dispose de réflexes thermorégulateurs complexes ajustant l'équilibre entre les gains (thermogénèse) et les pertes (thermolyse) de chaleur (Kenny & Flouris, 2014), la thermorégulation humaine correspond à l'ensemble de ces mécanismes. Ce processus neuronal complexe est obtenu par intégration physiologique thermique (Seebacher, 2009).

Il est communément admis que l'environnement chaud peut nuire à la performance de longue durée (Flouris & Schlader, 2015; Lorenzo et al., 2010). La production de chaleur métabolique (endogène) combinée à celle d'un environnement chaud (exogène) pose un véritable défi pour les processus thermorégulateurs. Face au gain de chaleur substantiel (externe et interne) les mécanismes de dissipation de chaleur ne sont plus capables au bout d'un certain temps d'évacuer efficacement la chaleur. Cela est d'autant plus vrai lorsque le degré d'humidité est élevé.

**Dans cette section seront décrits les processus thermorégulateurs puis nous aborderons les grandes lignes de l'adaptation cardiovasculaire à l'exercice en environnement chaud et le rôle de l'acclimatation.**

## 1. Mécanismes physiques d'échanges de chaleur

Lorsque les variations de température proviennent du milieu externe à l'organisme, les changements se produisent d'abord au niveau de la température cutanée (périphérie) puis fait varier la température centrale. Dans le cas contraire, lorsque la production de chaleur est endogène, on note des changements au niveau de la température interne dans un premier temps pour ensuite moduler la température cutanée.

Les transferts de chaleur entre le noyau et l'enveloppe agissent selon un gradient thermique, on note quatre voies d'échange de chaleur que l'on peut diviser en deux catégories :

- (1) Echanges de chaleur sèche ou sensible : par des processus physiques de convection, conduction et radiation
- (2) Echange de chaleur humide ou insensible : par évaporation

### *a) Convection*

La convection fait référence au transfert de chaleur entre une surface solide (peau) et un milieu fluide (gaz ou liquide). Le corps est constamment immergé dans un fluide (air ou eau). Le transfert de chaleur est toujours affecté par convection en revanche la quantité de chaleur transférée sera dépendante d'un gradient de température autrement dit si la température du fluide est supérieure à celle de l'organisme, cela entraînera un gain de chaleur ; à l'inverse cela entraînera une dissipation de chaleur dans le milieu. De plus, les mouvements du fluide ou du corps feront également varier la quantité de chaleur transférée, le renouvellement des couches du fluide sur la peau permettra l'abaissement ou l'augmentation de la température corporelle. Le port de vêtements empêche le transfert de chaleur dans le milieu ambiant par convection.

### *b) Conduction*

La conduction thermique implique le transfert diffusible de la chaleur par contact direct entre des surfaces. Elle permet ainsi à l'organisme de perdre ou de gagner de la chaleur. Selon la loi de Newton la quantité de chaleur transférée par conduction est proportionnelle à la différence de température entre les corps considérés. En d'autres termes, le sens de transfert s'oriente de la température la plus haute vers la plus basse. Par exemple, les structures internes transfèrent de proche en proche leur chaleur vers les tissus périphériques via la circulation sanguine.



La conductivité est liée au gradient de température, à l'épaisseur, la taille et la zone en contact entre les deux surfaces. Les vêtements ont une faible conductivité, ils agissent comme des isolants thermiques empêchant le transfert de chaleur entre l'environnement et l'organisme, ils sont donc préconisés pour maintenir la chaleur dans un environnement froid.

#### a) *Radiation*

La radiation correspond au processus de transfert de chaleur privilégié par l'organisme au repos. En effet, dans des conditions thermoneutres (environ 21 °C – 25 °C) le corps nu perd 60 % de son excédent de chaleur par émission d'ondes électromagnétiques qui irradient à sa surface. Selon la loi de Stefan-Boltzmann, tout objet ou corps absorbe et émet des ondes électromagnétiques, dans toutes les directions vers ce qui l'entoure, ainsi il pourra transmettre son surplus de chaleur mais également recevoir l'excédent de la part des objets environnants. Si les objets ont une température supérieure à celle du corps, le transfert s'oriente vers un gain. Dans le cas inverse, le transfert se dirige vers une perte de chaleur de l'organisme vers son environnement.

#### b) *Evaporation*

Le transfert de chaleur sèche par la conduction, la convection et la radiation est aussi qualifié de processus sensible. La perte de chaleur peut également s'opérer par un processus insensible humide : *l'évaporation*. L'évaporation correspond au mécanisme physique qui se traduit par la transformation d'un liquide (sueur) en gaz (vapeur d'eau). L'évaporation comprend les pertes de chaleur insensibles par perspiration et respiration qui représentent environ 10 à 20 % de la dissipation de la chaleur au repos. En revanche, lorsque la production métabolique augmente de manière considérable, avec l'exercice en particulier l'évaporation par sudation se déclenche et demeure le mécanisme le plus sollicité. A la surface de la peau, la sueur produite par les glandes sudoripares s'évapore. Ce mécanisme s'accroît avec l'augmentation de la température interne. Un litre de sueur évaporée représente une déperdition de chaleur d'environ 680W soit 2 428 kj. Néanmoins, il est nécessaire que la sueur produite soit évaporée à la surface de la peau, le ruissellement des gouttes de sueur ne permet pas de transférer le surplus de chaleur de l'organisme à l'environnement.

L'évaporation est le moyen par excellence pour l'évacuation du surplus de chaleur métabolique notamment dans le cadre de l'exercice physique, et lorsque la température externe est supérieure à celle de la peau. Cependant si l'air est saturé en molécules d'eau ce mécanisme sera inefficace, l'environnement ne sera pas en mesure d'accepter d'autre molécule d'eau, en revanche, la conductivité peut être améliorée.

## 2. Facteurs limitants de la performance en environnement chaud

### a) *La température centrale*

La température centrale ( $T_c$ ) est le reflet du niveau d'énergie thermique produite par les organes profonds (cerveau, cœur, le foie etc.), mesurable par un thermomètre et est exprimée en degrés Celsius ( $^{\circ}\text{C}$ ), seules les mesures crâniennes, œsophagiennes et rectales peuvent témoigner de la température centrale. La  $T_c$  est régulée centralement par le cerveau pour répondre de manière contrôlée aux changements de l'équilibre thermique (production, absorption et dissipation de chaleur) dans le corps. Elle est utilisée depuis des siècles comme indice principal pour diagnostiquer l'hypothermie ou hyperthermie, et certaines maladies. Sa valeur a d'ailleurs été corrélée au risque de mortalité (Obermeyer et al., 2017).

Elle peut atteindre des températures extrêmes sans provoquer de complications graves. Par exemple, la plus basse température enregistrée chez un homme vivant était de  $13.7^{\circ}\text{C}$  (Gilbert et al., 2000). Les plus hautes températures enregistrées chez l'homme vivant, ont été observées à l'exercice. Les auteurs ont noté, une température d'environ  $41.5^{\circ}\text{C}$  chez les marathoniens exerçant en environnement chaud (Racinais et al., 2019).

A l'exercice, l'augmentation de la température interne peut représenter un facteur limitant de la performance. Peiffer & Abbis (Peiffer & Abbiss, 2011) ont rapporté que la vitesse d'augmentation de la température centrale était supérieure durant un contre la montre de 40 km en environnement chaud ( $32^{\circ}\text{C}$ ) comparativement à celle obtenue en environnement neutre ( $17^{\circ}\text{C}$ ). Ces auteurs ont également montré que l'accroissement de la  $T_c$  était corrélée à une diminution de la puissance et de la performance à  $32^{\circ}\text{C}$  comparé à  $17^{\circ}\text{C}$ . Galloway et Maughan (Galloway & Maughan, 1997) ont rapporté chez des personnes saines moyennement actives, que la durée de pédalage à  $70\% \dot{V}O_{2\text{max}}$  était significativement réduite à  $31^{\circ}\text{C}$  comparé à  $11^{\circ}\text{C}$  ou  $21^{\circ}\text{C}$ .

En soit l'augmentation de la Tc à l'effort est normale et proportionnelle à la consommation maximale en oxygène. Cette augmentation est favorable pour induire un gradient thermique allant des organes internes vers la surface de la peau ou la chaleur sera dissipée dans l'environnement ambiant. Afin de réduire efficacement le surplus de chaleur métabolique, l'environnement ambiant présente dans l'idéal une température plus basse, seulement en environnement chaud le gradient thermique est réduit et la perte est moins efficace faisant accroître considérablement la Tc. Il existe un phénomène théorique de valeur critique qui a été suggéré comme étant un mécanisme de protection pour éviter l'hyperthermie potentiellement fatale.

### *b) La température cutanée*

La température cutanée varie plus rapidement aux changements thermiques de l'environnement ambiant comparativement à la température centrale, Kenefick et al ont rapporté que pour une augmentation de 10 °C du milieu ambiant la Tcut augmentait de 4 °C (Kenefick et al., 2010). Sa variation dépend de la zone cutanée considérée, en général, la peau velue étant souvent recouverte par des vêtements, sa température est plus stable contrairement à la peau glabre (cf-chapitre 1 structures vasculaires) (Romanovsky, 2014a). Ainsi, pour obtenir une valeur fiable il est nécessaire de mesurer à plusieurs endroits à la surface du corps, en principe on évalue via plusieurs sondes thermocouples placées au niveau du front, de la main, de la cuisse, de l'avant-bras, des aisselles, de l'abdomen, du mollet et du dos ; le nombre de sondes varie en fonction des utilisateurs (Martinez-Tellez et al., 2019; Schlader et al., 2011; Van Marken Lichtenbelt et al., 2006).

L'augmentation de la température cutanée est également un facteur déterminant pour la performance en environnement chaud (Schlader et al., 2011). En effet, plusieurs auteurs ont montré qu'à des températures centrales équivalentes l'augmentation de la température cutanée était associée à la diminution de la puissance aérobie. Pour assurer l'évacuation du surplus de chaleur la température cutanée s'élève cela nécessite également un flux sanguin cutané élevé pour assurer un débit adéquate face à l'accumulation de chaleur (métabolique et environnementale) ; le débit cardiaque alloué aux muscles actifs est alors réduit pour continuer à perfuser efficacement la peau afin de garder un seuil cible de température centrale. Ainsi, l'augmentation de la température cutanée est un facteur responsable de la diminution de la puissance à l'exercice.

## c) *Ajustements cardiovasculaires en environnement chaud*

### (1) Débit cardiaque

Le débit cardiaque augmente chez l'homme à l'exposition à la chaleur contrairement aux autres espèces comme le babouin, le rat ou le chien. Cette augmentation sera plus ou moins ample en fonction de l'intensité du stress thermique. Par exemple, 2 h d'exposition passive à une température ambiante de 40 °C requièrent l'augmentation du débit cardiaque chez des personnes saines (Sherif et al., 1970). Cette augmentation est surtout liée à celle de la fréquence cardiaque.

### (2) Fréquence cardiaque et volume d'éjection systolique

*Fréquence cardiaque et volume d'éjection systolique* : l'augmentation de la FC est le principal facteur de l'augmentation du débit cardiaque à l'exposition passive à la chaleur. Les augmentations substantielles de la FC sont comparables à celles obtenues lors d'un exercice aérobic modéré dès le début de l'exercice (Amin et al., 2021; Thomas et al., 2016). Elles sont aussi bien visibles chez le babouin, le rat que chez l'homme. La tachycardie observée est médiée d'une part (40 %) par l'effet direct de l'augmentation de la température sur le nœud sinusal (Frey & Kenney, 1979; Gorman & Proppe, 1984), et d'autre part par le retrait vagal et l'augmentation de l'activité adrénergique sympathique (Frey & Kenney, 1979; Gorman & Proppe, 1984). Le stress thermique peut être décrit comme un état hyperadrénergique global entraînant l'augmentation de la signalisation noradrénergique et des catécholamines circulantes, qui a notamment un rôle dromotrope<sup>2</sup> positif sur le myocarde. On note une augmentation de la FC d'environ 35 battements/min/°C (Périard & Racinais, 2019). Le VES quant à lui reste constant, ou alors augmente légèrement face au stress thermique passif. Cette observation est attribuable au maintien des fonctions systoliques et diastoliques. On note également une fraction d'éjection plus importante (Brothers et al., 2009).

---

<sup>2</sup> Le dromotropisme représente la conductibilité de l'influx nerveux des fibres musculaires un effet positif sera liée à l'augmentation et négatif liée à la diminution de la vitesse de l'influx nerveux.

### (3) Pression artérielle

La pression artérielle moyenne est maintenue constante malgré la réduction de la pression veineuse centrale, due à l'augmentation de la compliance veineuse périphérique et de l'augmentation du débit cardiaque (Crandall et al., 2008; Johnson & Proppe, 2011; Rowell, 1974). Lors d'un stress passif dû à la chaleur, les résistances périphériques diminuent considérablement pour éviter la chute de la pression artérielle et les résistances dans certaines zones augmentent. La redistribution du volume sanguin est attribuée à une vasoconstriction des territoires splanchniques. La circulation splanchnique est constituée du flux sanguin portal hépatique, splénique, pancréatique et gastro-intestinal, elle reçoit dans des conditions normothermiques environ 25 à 30% du volume sanguin. Cet important volume sanguin sera redistribué vers les territoires centraux au même titre que le flux rénal qui représente lui environ 15 %, permet tant de pallier la diminution du volume central. Grayson et al (Grayson, 1949) ont montré qu'à mesure que la température corporelle augmentait, celle obtenue au niveau des muscles intestinaux diminuait.

L'exercice dynamique entraîne une production de chaleur métabolique substantielle qui a son tour nécessite une augmentation de la perfusion cutanée thermorégulatrice pour atténuer l'élévation de la température interne. Les demandes métaboliques et thermorégulatrices sont généralement considérées comme étant prioritaires, un conflit apparaît entre ces deux territoires (Kenney et al., 2014 ; Périard et al., 2016). Les réponses intégrées régulent de manière à toujours garder un objectif ultime qui est de maintenir une pression sanguine suffisante. Ce qui est rendu très difficile avec une intensité et une durée importante à l'exercice. Périard et al (Périard et al., 2011) ont rapporté que la performance sur un 40 km contre la montre même chez les personnes entraînées en endurance était significativement réduite comparé à celles en environnement thermoneutre (35 °C vs 20 °C, respectivement). La puissance aérobie et la consommation maximale en oxygène étaient similaires dans les deux environnements jusqu'à 15-20 min puis elles ont décliné significativement en ambiance chaude, malgré des Tc et un état d'hydratation similaire dans les deux conditions. La baisse de performance a été associée à l'augmentation du stress cardiovasculaire observable par un lien corrélatif entre la baisse de la puissance et celle du débit cardiaque et du volume systolique. Ainsi, le stress thermique à l'exercice de haute intensité, est en mesure d'accélérer la diminution du débit cardiaque, de la pression artérielle, du volume systolique et de la consommation maximale en oxygène, limitant la performance dans ce type d'ambiance (González-Alonso & Calbet, 2003).

*d) Changements hématologiques, hémorhéologiques et balance pro/anti-oxydants à l'exercice en environnement chaud*

L'exercice en environnement chaud ne provoque pas nécessairement un déséquilibre de la balance pro/antio-xydante ou davantage de perturbations hémorhéologiques par rapport à un environnement neutre (Sureda et al., 2015). Certains n'ont rapporté aucun changement de la viscosité (Connes, 2010; Tripette et al., 2011) ou des défenses anti-oxydantes après un exercice modéré (de Melo-Marins et al., 2021). En revanche, la déshydratation accentuée dans ces conditions, est capable de générer des perturbations hémorhéologiques et d'installer un environnement pro-oxydant. Une déshydratation > 3% du poids corporel est associée au déséquilibre de la balance pro/anti-oxydante vers un état pro-oxydant (de Melo-Marins et al., 2021). De même, la sollicitation accrue de la glycogénolyse à l'exercice en hyperthermie entraîne une accumulation plus importante de lactate et d'ions d'hydrogène comparativement à une température neutre à l'exercice (Febbraio, Snow, Stathis, et al., 1994; Hargreaves, 2008). Ces derniers réduisent la déformabilité des GRs et diminuent le pH capable également d'induire un environnement pro/anti-oxydante. Le mécanisme principal de cette déshydratation est la réduction du volume plasmatique, ainsi cela contribue à augmenter la viscosité sanguine et l'hémolyse favorisant la production de EROs (Hillman et al., 2011).

*a) Particularité de l'environnement chaud et humide (tropical)*

Le climat tropical se caractérise par des températures environnementales supérieures à 18°C et des précipitations qui dépassent le processus d'évapotranspiration durant au moins 270 jours par année (Hue, 2011, 2012).

La Guadeloupe est une île située dans le sud de la mer des Caraïbes caractérisée par un climat tropical. On note des températures annuelles aux alentours de 25°C avec un indice d'hygrométrie supérieur à 70 % (Hue, 2011, 2012). La performance dans cet environnement reste limitée par une réduction de l'efficacité du processus d'évapotranspiration. L'air étant saturé en vapeur d'eau n'est pas en mesure d'accepter davantage de molécules d'eau, ainsi cela limite la capacité d'élimination du surplus de chaleur et favorise l'accroissement rapide de la température cutanée et centrale.

Afin de maintenir un équilibre et poursuivre l'activité physique dans ce type d'environnement, la production de chaleur métabolique doit être réduite en diminuant l'intensité, la performance sera diminuée (Maughan et al., 2012 ; Voltaire et al., 2002). Maughan et al (Maughan et al., 2012) ont suggéré que la réduction de la performance en environnement chaud/sec et chaud/humide reposait sur les mêmes facteurs limitants (contraintes cardiovasculaires et sensorielles liée au stress thermique) avec des effets exacerbés du stress thermique et de la perception de ce stress en milieu tropical.

### 3. Impact de la pratique en environnement chaud chez les PTDs

Dans le cas des PTDs, le coup de chaleur à l'exercice a souvent été confondu avec la rhabdomyolyse d'effort. Bien que la plupart des évènements soient survenus dans des environnements particulièrement stressants (altitude et chaud) (Hedreville et al., 2009 ; Jones et al., 1970 ; Thogmartin et al., 2011), les PTDs ne présentent pas plus de risque de coup de chaleur (Nelson et al., 2018 ; Singer et al., 2018). Toutefois la combinaison de l'exercice intense et du stress thermique environnemental offre une situation propice (une acidose, hyperthermie et une déshydratation) à l'augmentation de la vitesse de polymérisation de l'hémoglobine S, voire de falciformation des GRs (Bergeron et al., 2004). Cependant peu d'études sont disponibles sur les mécanismes de thermorégulation et la fonction vasculaire chez les PTDs. Celles qui existent concernent un modèle animal et les auteurs n'ont pas rapporté de différences (Y. Chen & Islam, 2016). L'étude de Samb et al (Samb et al., 2005) a rapporté que les PTDs présentaient des performances à l'exercice sous-maximal similaires à leurs homologues. Pourtant Bergeron et al (Bergeron et al., 2004) et la multitude de rapports de cas sont la preuve qu'il existe de potentiels désordres microvasculaires dans ces circonstances.

#### 4. Stratégies de lutte contre les effets potentiellement délétères de la pratique en environnement chaud

##### *a) Stratégies de refroidissement*

Les stratégies de refroidissement (externe et interne) constituent à l'heure actuelle l'une des meilleures stratégies pour réduire les facteurs limitants de la performance en environnement chaud. L'utilisation du pré per et post-cooling et du menthol (en ingestion ou bains) ont été associés positivement à l'amélioration des performances en ambiance chaude/sèche et chaude/humide (Riera et al., 2014; Tran Trong et al., 2015; Zimmermann et al., 2018).

Ces stratégies servent à favoriser la déperdition de chaleur.

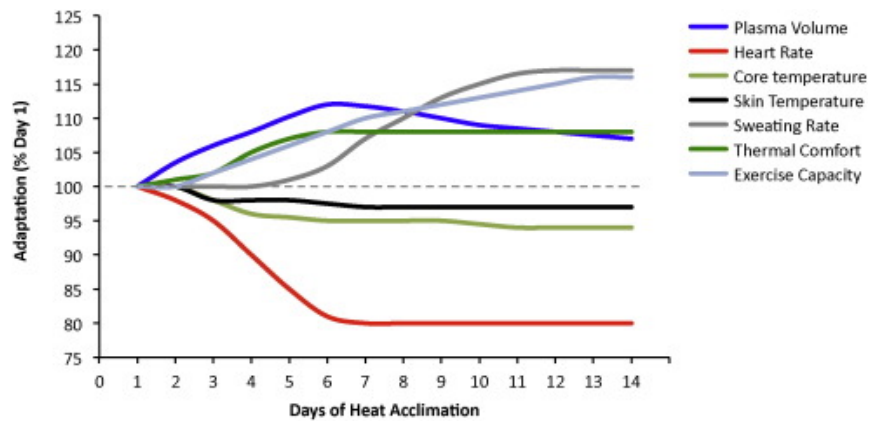
##### *b) Acclimatation*

De manière conventionnelle, l'acclimatation fait référence à l'ensemble des processus d'ajustement physiologique qui se mettent en place pour permettre à l'organisme de s'adapter à son nouvel environnement (Taylor, 2014). Elle se produit lorsque l'homme est exposé de manière répétée à un environnement stressant (chaud/froid) c'est-à-dire en dehors de la zone de thermoneutralité, définie comme étant la zone de dépense énergétique minimale.

Le vocabulaire retenu est différent selon que l'adaptation concerne en environnement naturel ou non. Ainsi on parle « d'acclimatation », ces changements seront causés par la transition entre deux saisons ou par des zones géographiques. *A contrario*, lorsque l'on utilise des conditions climatiques expérimentales contrôlées on parle « d'acclimatement » (Commission thermique de l'IUPS, 1987). Ces deux notions diffèrent par leur mise en place mais renvoient à des adaptations équivalentes. L'acclimatation à un environnement naturel permet de manière logique d'instaurer des changements plus précis en rapport avec ce dernier.

Si l'acclimatation est réussie, elle repousse le seuil de tolérance pour ce nouvel environnement en reculant les limites de la température supportable ainsi que la survie de l'individu qui en découle. Dans le cas contraire, les effets de cet environnement parfois extrême peuvent entraîner des lésions irréversibles voire la mort d'un individu. Par exemple les séjours en haute altitude ou des vagues d'extrêmes chaleur. Le but ultime de l'acclimatation est 1) l'amélioration du confort thermique 2) l'amélioration des performances sous maximales et maximales lors de la pratique physique (cf-tableau 7).





**Figure 26** Adaptations progressives durant la période d'acclimatation en environnement chaud (Périard & Racinais, 2019)

La répétition active ou même passive dans ce type d'ambiance confère des adaptations permettant de pallier ces effets néfastes. On note d'ailleurs des améliorations globales des performances sous-maximales et maximales (Nielsen et al., 1993 ; Lorenzo et al., 2010 ; Racinais et al., 2015). De plus, il se pourrait même que ces stratégies soient de véritables alliées pour améliorer les capacités d'exercice dans des conditions plus fraîches (Minson & Cotter, 2016). La principale contrainte de l'exercice en environnement chaud est de fournir un débit cardiaque suffisant pour perfuser de manière convenable les muscles, tout en supportant l'augmentation du flux sanguin cutané.

On note après une période d'acclimatation des améliorations d'ordre hématologique (expansion du volume plasmatique, HSP70), vasculaire (fonction et structure), cardiaque (efficacité compliance ventriculaire, diminution de la fréquence cardiaque au repos, augmentation du volume d'éjection systolique), métabolique (réduction de la sur-sollicitation de glycolyse) et thermorégulateur (la baisse de la  $T_{cent}$  et  $T_{cut}$ ) (Périard et al., 2015; Périard & Racinais, 2019; Sawka et al., 2011; Tyler et al., 2016). Toutes ces adaptations permettent de réduire le risque d'hyperthermie en améliorant le refroidissement du corps et en réduisant le coût énergétique de ces mécanismes mais ne supprime pas le risque. Bien que les performances soient améliorées elles restent inférieures à celles effectuées dans un environnement plus confortable d'où l'établissement de recommandations (tableau annexe 5). La connaissance doit être élargie dans des populations de personnes à risque vivant quotidiennement dans ces circonstances (diabétique, PTDs, patients drépanocytaires), afin de prévoir des modalités adaptées aux circonstances.

Paramètres	Conséquences	Mécanismes	Références
<b>Amélioration du confort thermique</b>			
<i>Température centrale au repos et à l'exercice</i>	↓	Plus grande thermosensibilité	(Wijayanto et al., 2011; Wyndham, 1967)00
<i>Température cutanée</i>	↓	Répartition uniforme de la sudation à la surface de peau, amélioration de l'évaporation et du refroidissement	(Ravanelli et al., 2017)00
<i>Sudation</i>	↑ (Seuil d'apparition précoce)	Réactivité in vivo des glandes eccrines aux agonistes cholinergiques Augmentation de la densité des glandes	(Nadel et al., 1976; Roberts et al., 1977; Lorenzo & Minson, 2010; Johnson, 2010)00
<i>Flux sanguin cutané</i>	Débit ↑ Activation précoce	La vasodilatation active dans la peau venue s'active pour un seuil de température centrale/cutanée plus bas. Activation dès le début de l'exercice	
<i>Glycogène musculaire</i>	Épargné (exercice sous-maximal)	Diminution de la sécrétion des catécholamines et de la glycolyse musculaire grâce à l'expansion du volume plasmatique entre autres.	(Febbraio, 2001; Febbraio, Snow, Hargreaves, et al., 1994; Hargreaves & Spriet, 2018; Hodge et al., 2013)
<i>Seuil de lactate</i>	↑	Déplacement du crossover, meilleure utilisation des lipides et diminution de l'utilisation des glucides pour une même intensité. Néanmoins, l'utilisation des glucides reste la principale source par rapport à un environnement thermoneutre. <b>Amélioration du shift</b>	
<i>Lactate musculaire et plasmatique</i>	↓ (Exercice sous-maximal)		
<b>Amélioration de la capacité aérobie sous-maximale et maximale (14jours)</b>			
<i>Pertes d'électrolytes</i>	↓	Na + et Cl- diminuée malgré la sudation plus importante permise par une meilleure réabsorption	(Buono et al., 2007, 2018; Klous et al., 2021)00
<i>Volume plasmatique</i>	↑		
<i>Protéines de chocs thermique (Hsp)</i>	↑	Biomarqueurs de la thermotolérance, leur réserve augmente avec l'acclimatation, plus le stress sera important et long et plus leur expression est augmentée surtout au niveau du foie et du cerveau	(Maloyan et al., 1999; Nava & Zuhl, 2020; Brunt & Minson, 2021a)
<i>Débit cardiaque</i>	=	Maintien grâce aux changements sur la fréquence cardiaque et du VES. Ces mécanismes comprennent (a) un refroidissement amélioré de la peau et une redistribution du volume sanguin ; (b) l'expansion du volume plasmatique ; (c) augmentation du tonus veineux des lits vasculaires cutanés et non cutanés ; et (d) une température cutanée et centrale réduite	(Périard et al., 2015; Périard & Racinais, 2019)
<i>Fréquence cardiaque</i>	↓		
<i>Volume systolique</i>	↑		
<i>Pression sanguine</i>	=		

**Tableau 7** récapitulatif des adaptations lors de l'acclimatation à un environnement chaud (Périard & Racinais, 2019; Tyler et al., 2016)

***CONTRIBUTION***  
***PERSONNELLE***

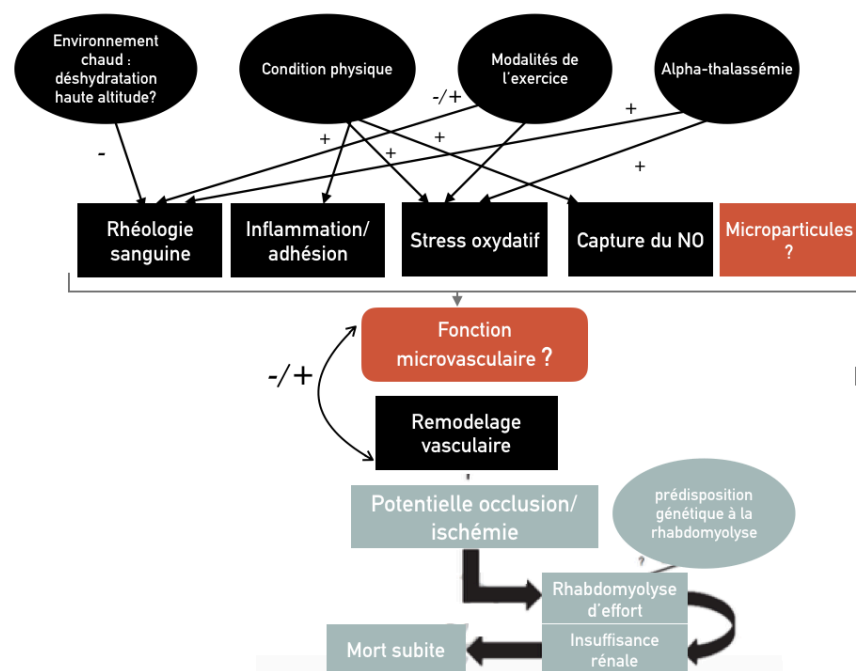
---

# **OBJECTIFS DU TRAVAIL DE THÈSE**

---

Cela fait maintenant quelques décennies que les effets de l'exercice aigu chez les porteurs du trait drépanocytaire sont apparus dans la littérature scientifique. D'une part comme modèle diagnostique pour étayer la compréhension chez les homozygotes et d'autre part comprendre dans quelles mesures ils sont sujets à la mort subite à l'effort. Pour rappel, ces individus possèdent au sein de leurs GRs un faible taux (< 40 %) d'hémoglobine S anormale. C'est *a priori* ce qui les protègent des complications récurrentes observables chez les homozygotes SS. Pourtant, c'est également cette présence d'hémoglobine S qui est à l'origine de troubles vasculaires parfois mortels survenant au repos mais surtout à l'exercice chez ces derniers. Malgré la multitude de preuves concernant une capacité physique préservée, une falciformation des GRs (Bergeron et al., 2004), un stress oxydatif accru (Chirico et al., 2012 ; Das et al., 1993), des dysfonctionnements hémorhéologiques (Connes, 2010 ; Connes et al., 2008 ; Tripette et al., 2007), une diminution de la NO (Tripette, et al., 2010a), une augmentation des molécules adhérences vasculaires (Monchanin et al., 2008 ; Tripette et al., 2010 ; Aufradet et al., 2010) et l'existence d'un remodelage microvasculaire (Vincent, et al., 2010) ont été identifiés après l'exercice. En dépit, de ces preuves évidentes de désordres microvasculaires en faveur des crises vaso-occlusives drépanocytaires, peu, voire aucune n'est disponible concernant la fonction microvasculaire au repos et en post-exercice chez les PTDs. De plus, même dans un environnement thermiquement stressant (chaud) qui favorise la déshydratation et la polymérisation de l'HbS et pose de réelles contraintes pour la répartition du flux sanguin, aucune donnée n'est disponible. En l'état actuel, proposer des recommandations spécifiques sans comprendre l'enchaînement ni même les déclencheurs de ces crises reste difficile. Nous pensons que ces mécanismes doivent être observés sous le prisme d'une pathologie vasculaire au même titre qu'hémato-hémorhéologique.

A partir des modèles existants (Loosemore et al., 2012 ; Tripette et al., 2013 ; Martin et al., 2018), nous avons entrepris de déterminer la fonction microvasculaire au repos et après l'exercice, d'étudier également certains de ces déterminants (rhéologie sanguine, stress oxydatif) et d'observer les différentes réponses en fonction des conditions environnementales (chaud ou neutre) et métaboliques (jeun, exercice et en post-prandial).



C'est pourquoi dans notre travail de recherche nous avons pour :

### Objectif principal

**De caractériser la fonction microvasculaire cutanée chez les porteurs du trait drépanocytaire au repos et à l'exercice, dans différentes conditions environnementales en comparaison avec des non porteurs du trait drépanocytaire.**

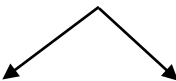
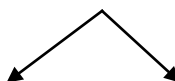
**Nous formulons l'hypothèse selon laquelle les PTDs auraient une altération de la fonction microvasculaire cutanée observable via les indices mesurés (perfusion et réponses au chauffage local) par débitmétrie laser doppler, en raison des potentielles perturbations hémorhéologique/hématologiques par la présence d'hémoglobine S.**

## Objectifs secondaires

**D'éclairer d'une part la physiopathologie des dysfonctions vasculaires liées à l'exercice chez les PTDs en étudiant les déterminants biologiques (paramètres hématologie/hémorhéologie, stress oxydatif, biomarqueurs de lésions cardiaque et musculaire, microparticules) et physiologiques (variabilité fréquence cardiaque, métabolisme).**

**Et d'autre part comprendre dans quel sens les conditions environnementales (d'exercice et de récupération) et la prise alimentaire influencent les réponses vasculaires.**

**Tableau 8** Récapitulatif des différentes études durant ce travail de thèse

	<b>Etude Trait drépanocytaire et exercice (TDEx)</b>	<b>Etude ancillaire</b>
<b>Objectifs</b>	<b>Caractérisation des spécificités de la fonction microvasculaire cutanée au repos et durant la période post-exercice chez les PTDs</b>	<b>Effet de la prise alimentaire sur le flux sanguin cutané en environnement chaud</b>
<b>Population</b>	<p><b>Etude clinique :</b></p>  <p><b>9 PTDs      11 CTLs</b></p>	<p><b>Etude clinique :</b></p>  <p><b>20 femmes    12 hommes</b></p>
<b>Protocoles</b>	<p><u>Evaluation in vivo du flux microcirculatoire cutané</u> par :            Débitmétrie Laser doppler :            (Chauffage local)  <b>Repos/ immédiatement post-exercice</b>  <a href="#">Article 2</a>  <b>Récupération + post-prandial</b>  <a href="#">Article 3</a></p>	<p><u>Mesure de la glycémie</u> (pre/postprandial)</p> <p><u>Evaluation in vivo du flux microcirculatoire cutané</u> par :            Débitmétrie Laser doppler :            (Chauffage local)  <a href="#">Article 1</a></p>

*Dans les prochaines parties, nous détaillerons dans un premier temps la méthodologie entreprise pour le projet principal de thèse à savoir le protocole TDEx, et nous détaillerons également l'étude ancillaire du projet TDEx qui s'est déroulée en parallèle de ce protocole.*

---

# **MATERIELS & METHODES**

---



## A. Populations et recrutement

### 1. Étude TDEx

Le projet de recherche Trait Drépanocytaire Exercice (TDEx), s'inscrit dans un modèle d'étude clinique transversale qui a été approuvé par le comité d'éthique Sud/ouest Outre-Mer (2017-A02226-47 Clinical Trials (NCT04028791), avec une période d'inclusion de 16 mois (Mars 2018 à Juillet 2019). La totalité des expérimentations a été réalisée au laboratoire ACTES.

La cohorte était composée de jeunes hommes de génotypes HbAS ou HbAA, âgés entre 18 et 30 ans, moyennement actifs, acclimatés au climat tropical. Avant toute expérimentation, chaque participant devait signer un formulaire de consentement et recevait une note d'informations concernant le protocole.

**Tableau 9** Critères d'éligibilité du projet TDEx

Critères d'inclusion	Critères d'exclusion
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Jeunes hommes</li> <li>- Âgés entre : 18 à 30 ans</li> <li>- En bonne santé</li> <li>- Statut hémoglobinémiq normale (HbA/HbA) et les porteurs du trait (HbA/HbS)</li> <li>- Actif (pratiquants de l'activité physique, soit au moins 3 fois par semaine)</li> <li>- Acclimaté (résident depuis minimum 6 mois en Guadeloupe ou dans la Caraïbe)</li> <li>- Indice de masse corporelle compris entre <math>\geq 18.5</math> et <math>\leq 25</math> kg/m<sup>2</sup></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Tout autre statut hémoglobinémiq hors (HbAA) ou (HbAS)</li> <li>- Fumeurs</li> <li>- Troubles de compréhension</li> <li>- Présentant un trouble cardiovasculaire, chronique métabolique, neurovasculaire, rénal, respiratoire, neuromusculaire, musculo-squelettique ou articulaire connue.</li> <li>- Contre-indication à l'effort physique</li> <li>- Pas de complication pendant l'effort</li> <li>- Non acclimaté et sensibilité à la chaleur</li> </ul>

## 2. Étude ancillaire

Dans cette étude, nous avons cherché à caractériser les effets de l'hyperglycémie post-prandiale aiguë sur la fonction microvasculaire cutanée en environnement chaud. Pour ce faire nous avons mené une étude de type transversale, composée de deux visites expérimentales espacées d'au moins 2 à 7 jours. La fonction microvasculaire était comparée avant et après un repas, en environnement chaud (31 °C) versus en environnement neutre (21 °C). Au total 32 jeunes (20 femmes/12 hommes) personnes en bonne santé, âgées entre 18 et 30 ans, ont effectué la totalité des visites expérimentales. Ce protocole s'inscrit dans le projet TDEx en tant qu'étude ancillaire.

**Tableau 10** Critères d'éligibilité de l'étude ancillaire

<b>Critères d'inclusion</b>	<b>Critères d'exclusion</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Jeunes hommes / femmes</li> <li>- Agés entre : 18 à 30 ans</li> <li>- En bonne santé</li> <li>- Statut hémoglobinémiq ue normale (HbA/HbA) et les porteurs du trait (HbA/HbS)</li> <li>- Actif (pratiquants de l'activité physique, soit au moins 3 fois par semaine)</li> <li>- Acclimaté (résident depuis minimum 6 mois en Guadeloupe ou dans la Caraïbe)</li> <li>- Indice de masse corporelle compris entre <math>\geq 18.5</math> et <math>\leq 25</math> kg/m<sup>2</sup></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Contraceptifs oraux</li> <li>- Fumeurs</li> <li>- Troubles de compréhension</li> <li>- Présentant un trouble cardiovasculaire, chronique métabolique, neurovasculaire, rénal, respiratoire, neuromusculaire, musculo-squelettique ou articulaire connue.</li> <li>- Contre-indication à l'effort physique</li> <li>- Complication connue pendant l'effort</li> <li>- Non acclimaté et sensibilité à la chaleur</li> </ul>

## B. Déroulement des expérimentations

### 1. Déroulement du protocole TDEx

Le design retenu pour ce projet inclut cinq sessions expérimentales : deux sessions de repos où seule la fonction microvasculaire était mesurée et trois autres incluant un protocole d'exercice. Les sessions expérimentales avec exercice comprenaient une succession de trois efforts physiques suivis d'une période de récupération durant laquelle la fonction microvasculaire était mesurée à deux reprises (immédiatement post-exercice, et en postprandial). Les échantillons sanguins ont été recueillis exclusivement durant les sessions expérimentales d'exercice (cf schéma). Une session de familiarisation était organisée préalablement avant les trois sessions d'exercice, elle faisait également office d'une session expérimentale de repos.

#### *a) Familiarisation et sessions expérimentales de repos (TDEx)*

Les participants à jeun ont été accueillis dès 6 h 30 au laboratoire ACTES. Après une courte période d'acclimatation (15 minutes), les mesures suivantes ont été effectuées successivement : composition corporelle, pression artérielle (Systolique et Diastolique) température corporelle. Cette visite a servi également à mesurer la fonction microvasculaire au repos. Après les 50 minutes de mesure, les participants réalisaient les deux exercices semblables à ceux des autres visites décrites au chapitre protocole d'exercice avec quelques modifications : la session d'exercice comprenait un échauffement de 5 minutes à 75 Watts au lieu des 18 minutes pour les autres sessions, puis un test incrémental stoppé à 80 % de leur fréquence cardiaque théorique soit  $(220 - l'âge)$  au lieu du palier maximal réalisé par le sujet lors des autres sessions. Elle se composait d'un deuxième test, comprenant la répétition de sprint de 30 secondes entrecoupés de 20 secondes de récupération passive. Enfin cette visite prenait fin avec une collation.

*b) Sessions expérimentales d'exercice (TDEx)*

Ces sessions étaient au nombre de trois, avec un intervalle de 4 jours minimum entre chaque visite. Les participants débutaient directement par les deux épreuves physiques. Les conditions environnementales étaient différentes pour chaque visite (cf déroulement de l'exercice).

A l'issue des épreuves physiques la mesure de la fonction microvasculaire a été réalisée pendant 10 minutes, un repos de 45 minutes leur était proposé avec une collation. Enfin une deuxième prise de mesure de la fonction microvasculaire était réalisée pendant une période de 50 minutes.

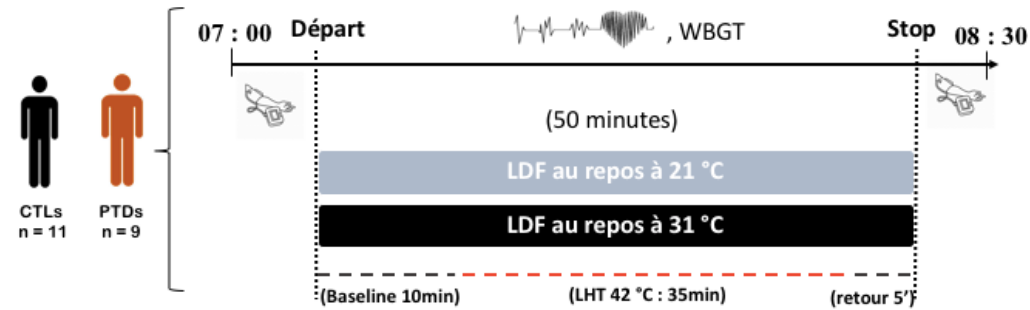


Figure 27 Sessions expérimentales au repos

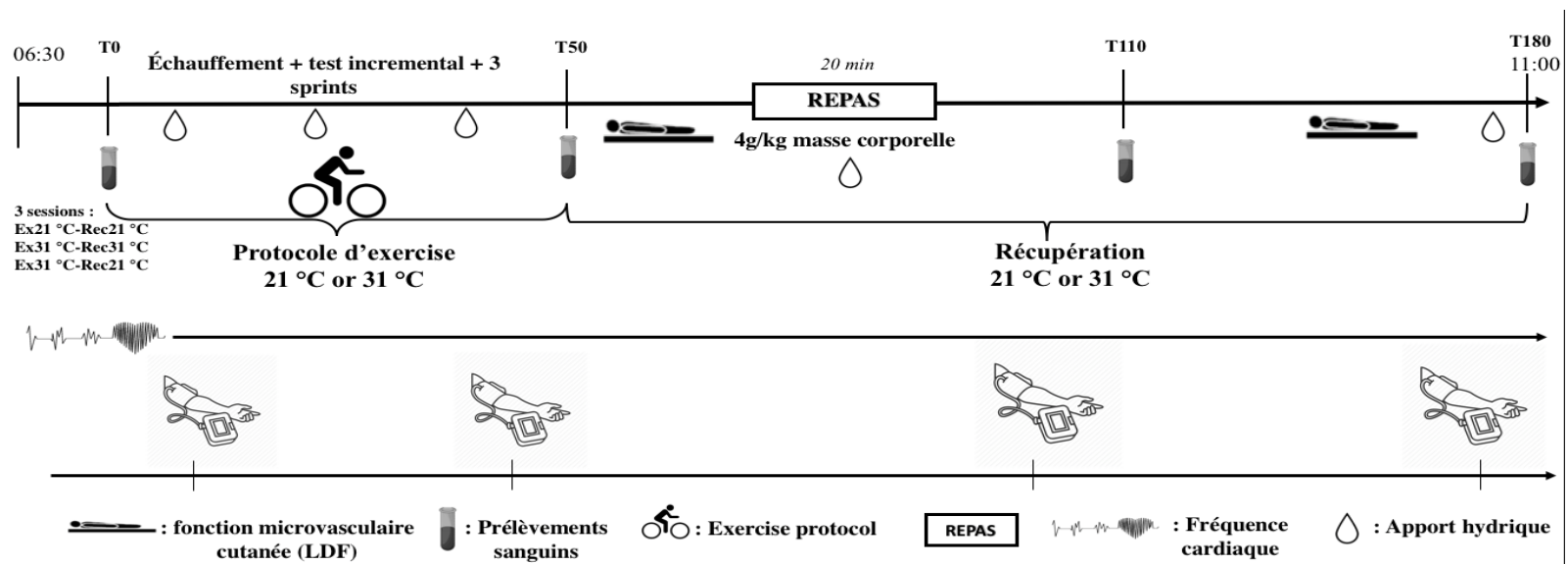
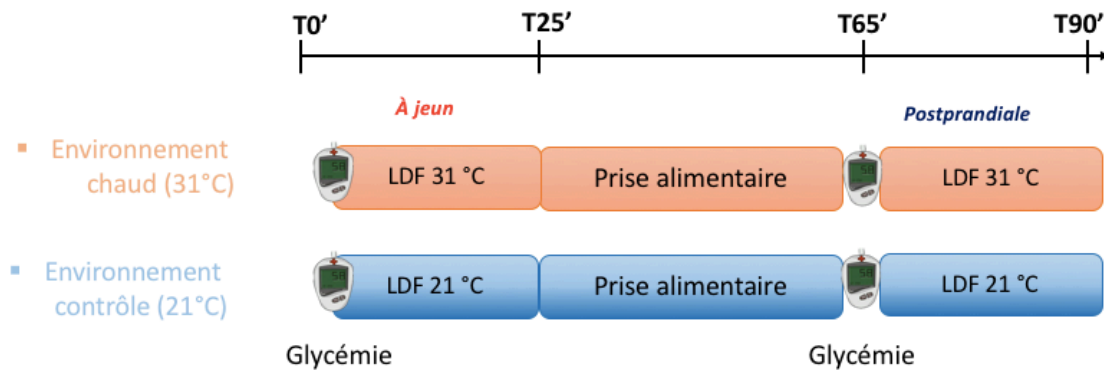


Figure 28 Sessions expérimentales d'exercice

### 3. Déroulement étude ancillaire

Les participants à jeun depuis la veille se sont présentés à deux reprises au laboratoire dès 6h30 du matin afin de réaliser les deux sessions expérimentales randomisées (visite à 21 °C et 31 °C). Après une période de 15 minutes d'acclimatation dans l'une des salles d'expérimentation, les mesures hémodynamiques étaient prises successivement (pression artérielle, température tympanique), et la glycémie. Ensuite, un protocole de mesure du flux sanguin cutané (SkBF), comprenant les valeurs de base et la réponse au chauffage local, a été appliqué avant et après un repas standardisé proportionnel à la masse de chaque participant.



**Figure 29** Sessions expérimentales de l'étude ancillaire

### 4. Recommandations

Les volontaires (TDEx et ancillaire) devaient être à jeun depuis au moins 12 heures. Il leur était également demandé de se tenir au même régime alimentaire la veille de toutes les sessions. Il leur était formellement interdit de boire de l'alcool, du café, ou du thé. De plus, ils ne devaient pratiquer aucune activité physique intense la veille d'une visite ou le jour même.

## 5. Conditions environnementales

Toutes les sessions expérimentales étaient réalisées en laboratoire dans des pièces closes où il était possible de maintenir des conditions environnementales souhaitées et enregistrées à l'aide d'un capteur Wet Bulb Globe Temperature WBGT (HD 32.2, Delta Ohm, Caselle di Selvazzano, Italy).

Sessions repos : elles étaient réalisées à 31 °C pour la température chaude et à 21 °C pour la température neutre.

Sessions exercice : trois conditions environnementales ont été testées pendant l'exercice et la récupération dans des conditions d'hygrométrie identiques soit 60 %, 31 °C pour la température chaude et 21 °C pour la température neutre, dans un ordre randomisé.

Température neutre à l'exercice et pendant la récupération (ENRN)

Température chaude à l'exercice et pendant la récupération (ECRC)

Température chaude à l'exercice et neutre pendant la récupération (ECRN)

	Effectifs	Conditions (WBGT)		
		Environnement chaud	Environnement neutre	Session mixte
<b>Etude TDEx</b>	20 jeunes hommes (9 PTDs/11 CTLs)	<i>Ex</i> : 31 ± 1	<i>Ex</i> : 20 ± 1	<i>Ex</i> : 30 ± 2
		<i>Rec</i> : 32 ± 1	<i>Rec</i> : 19 ± 1	<i>Rec</i> : 21 ± 2
<b>Etude ancillaire</b>	32 jeunes (12 hommes / 20 femmes)	31 ± 2 C	20 ± 1 C	—

*Ex* : exercice, *Rec* : récupération, *WBGT* : température donnée par le capteur Wet Bulb Globe Temperature

## 5. Exploration in vivo de la fonction microvasculaire cutanée

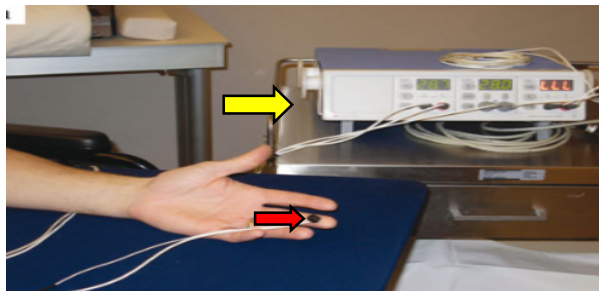
*Pour l'ensemble des études (TDEx et ancillaire) la fonction microvasculaire cutanée a été enregistrée à l'aide du dispositif PeriFlux System 5000 (Perimed, Stockholm, Suède).*

### *a) Principe de fonctionnement du LDF*

Le principe de fonctionnement du LDF est basé sur le décalage de fréquence de la lumière émise par le laser et réceptionnée par les globules rouges en mouvement. Le faisceau lumineux monochromatique de longueur d'onde fixée à 780 nm, (LASER, Light Activation by Stimulated Emission of Radiation) pénètre sous la peau à une profondeur d'environ 1 à 1.5 mm. Il interagit avec les structures stables (vaisseaux) et les cellules sanguines majoritaires (GRs) en mouvement. Les GRs en mouvement réfléchissent ce faisceau et modifient la longueur d'onde d'émission avec un décalage de fréquence « effet doppler ». La longueur de ce spectre varie en fonction de la vitesse des érythrocytes.

Par l'intermédiaire du logiciel PériSoft (Perimed, suède) on peut suivre l'évolution temporelle de la perfusion tissulaire (PU) et la température cutanée (°C) tout au long de l'enregistrement. La perfusion est calculée à partir de la vitesse d'écoulement (velocity, VU) et la concentration des GRs en mouvements (CMBC, CU) enregistrée tout au long de la mesure.

$$\text{Soit : } PU = VU \times CMBC$$



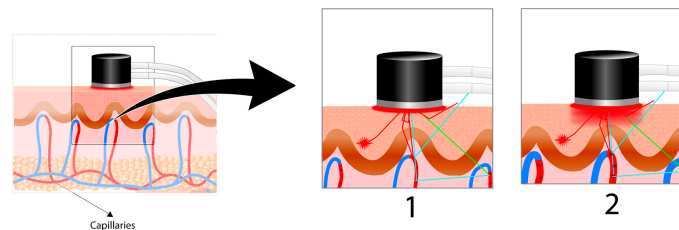
**Figure 30** On distingue en (flèche jaune) le dispositif Périmed, et la sonde thermique fixée au doigt du sujet en (flèche rouge).



Pour prendre en compte les variations interindividuelles de pressions artérielles Roustit & Cracowski (Roustit & Cracowski, 2013) préconisent l'expression en conductance vasculaire cutanée (CVC), en divisant les valeurs de perfusion par la pression artérielle moyenne (PAM, mmHg). Cette méthode comporte plusieurs avantages tels que : son caractère non-invasif, sa haute résolution temporelle 32 Hz.

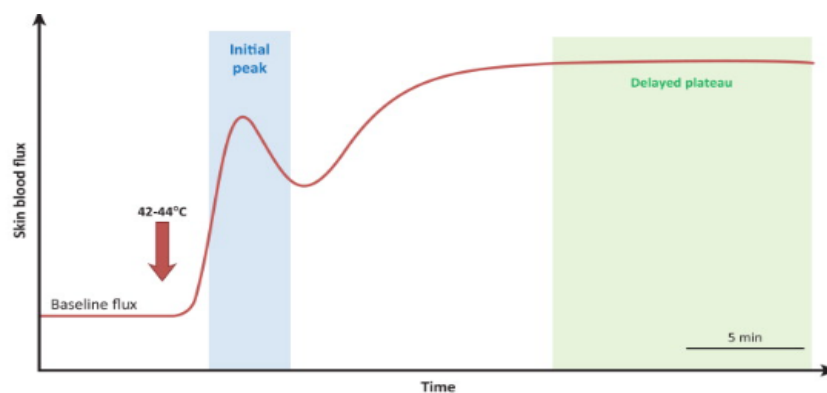
### b) Test de réactivité vasculaire via LDF

Pour tester la vasoréactivité nous avons utilisé le module thermique que dispose le Périflux. Ainsi, nous avons pu appliquer un chauffage localisé sur une zone de la peau (pulpe du doigt) de 42 °C.



**Figure 31** Sonde thermique du laser doppler 1) sans stimulation thermique, 2) avec stimulation (application de la chaleur 42 °C)

La réponse observée à l'issue du protocole d'hyperthermie locale 42 °C 0.1 C/s standard est exprimée en deux phases de vasodilatation, la première phase « le pic » qui dure entre 2 à 3 minutes, est initiée par le réflexe axonal et la deuxième phase plus lente « le plateau » qui dure 20 à 30 minutes est provoquée par la production locale du monoxyde d'azote par les cellules endothéliales (Minson et al., 2001), les mécanismes sous-jacents ont été décrits dans le chapitre 1 de la revue de littérature.



**Figure 32** Réponse standard d'un chauffage local par la méthode débitmétrie laser doppler schéma réalisé à partir de la mesure sur l'avant-bras chez un individu vivant en milieu tempéré par Roustit et Cracowski (2013).

### c) *Enregistrement et traitement des données*

*Pour l'ensemble des études (TDEx et ancillaire) les mesures de LDF ont été conduites en position de supination, la sonde était scotchée sur la pulpe du majeur de la main gauche via un film collant double face fournie avec le dispositif. Cette dernière était stabilisée via un accoudeur qui permettait d'assurer le confort des participants et de limiter leurs mouvements parasites.*

#### (1) Protocole TDEx

##### **Sessions expérimentales de repos (enregistrement de 50 min-figure 27)**

- Perfusion (base) correspond à la moyenne de 5 min sur un total de 10 min d'enregistrement
- Pic correspond à la valeur maximale durant les 5 premières minutes de chauffage local
- Plateau correspond à la moyenne durant les 10 dernières minutes de chauffage local sur les 35 min totales de cette période
- Récupération correspond au 5 min post-chauffage local

##### **Sessions expérimentales d'exercice :**

*Pour chacune des trois sessions (ECRC, ENRN, ECRN), deux mesures ont été effectuées*

##### ***Immédiatement post-exercice (enregistrement de 10 min)***

- Perfusion (base) correspond à la moyenne de 5 min d'enregistrement
- Pic correspond à la valeur maximale durant les 5 min d'enregistrement durant le chauffage local 42 °C.

##### ***Période récupération (enregistrement de 45 min)***

- Perfusion (base) correspond à la moyenne de 5 min d'enregistrement
- Pic correspond à la valeur maximale durant les 5 premières minutes des 35 min d'enregistrement lors du chauffage local
- Plateau correspond à la moyenne durant les 10 dernières minutes de chauffage local sur les 35 min totales de cette période
- Récupération correspond au 5 min post-chauffage local

(a) *Analyse spectrale par ondelettes de Morlet (exclusivement TDEx)*  
:

L'analyse fréquentielle a été conduite à partir des enregistrements LDF acquis à 32 Hz. Au préalable nous avons sélectionné quatre périodes d'intérêts à partir des signaux obtenus lors de la mesure LDF avant, pendant et après l'application du stimulus thermique :

- ✚ 2 min perfusion
- ✚ 5 min (locale hyperthermie LH)
- ✚ 3 min (post-LH)

Pour chacune de ces périodes les six bandes fréquentielles définies par Stefanova et al (Stefanovska et al., 1999) ont été déterminées et l'amplitude moyenne dans chacune des bandes a été calculée en valeur relatives.

*Ces analyses ont été effectuées dans le cadre d'une collaboration avec le laboratoire d'Avignon LaPEC.*

## (2) Étude ancillaire

### ***A jeun***

- Perfusion (base) correspond à la moyenne de 5 min d'enregistrement
- Pic correspond à la valeur maximale durant les 5 premières minutes des 20 min d'enregistrement de cette période.
- Plateau correspond à la moyenne durant les 10 dernières minutes de chauffage local sur les 20 min totales de cette période.

### ***Post-prandial***

- Perfusion (base) correspond à la moyenne de 5 min d'enregistrement
- Pic correspond à la valeur maximale durant les 5 premières minutes des 20 min d'enregistrement de cette période.
- Plateau correspond à la moyenne durant les 10 dernières minutes de chauffage local sur les 20 min totales de cette période.

## 6. Exercice (exclusivement TDEx)

### a) *Procédures*

Les épreuves d'effort ont été réalisées dans les trois sessions expérimentales d'exercice (*figure 28*). Elles se sont déroulées en position assise sur ergocycle (Monark, Lc4 Stockholm, Sweden), pendant une durée totale de 60 minutes environ, durant laquelle plusieurs épreuves d'efforts se sont succédées :

- i. Effort de 18 minutes à 75 Watts faisant office d'échauffement
- ii. Test incrémental jusqu'à épuisement (TI)
- iii. Test de sprints répétés (3 sprints 30 secondes / 20 secondes récupération passive)

Les participants débutaient par une période d'échauffement de 18 minutes à 75 Watts, après cette période deux minutes de récupération passive leur étaient accordées. Puis, ils poursuivaient, avec un TI qui débutait à 75 Watts et qui augmentait de 25 Watts toutes les minutes et ce jusqu'à l'épuisement. Le test était considéré comme étant maximal lorsque au moins trois de ces critères étaient réunis : (1) le  $\dot{V}O_2$  atteignait son maximum tandis que l'intensité augmentait, (2) la FC se situait à 10 bpm du maximum prédit par fréquence cardiaque maximale théorique [ $220 - (0,65 \times \text{âge})$ ], (3) le ratio d'échange respiratoire (RER ou QR) était supérieur à 1.05, (4) une cadence de pédalage inférieur à 60 tours/min, malgré les encouragements (Howley et al., 1995 ; Poole & Jones, 2017).

Après cette sollicitation maximale, les individus devaient pédaler pendant 3 minutes à faible charge (50 Watts), puis, 7 minutes de repos passif leur étaient accordées pour s'hydrater, leur retirer leur masque, cela permettait également au médecin d'apprécier leur état général, afin de diminuer progressivement la sollicitation musculaire, cardiovasculaire et métabolique, avant de reprendre avec l'épreuve finale suivante. Pour finir, les participants ont effectué une répétition de trois sprints de 30 secondes entrecoupés de 20 secondes de repos passif.

La puissance de ce test était déterminée à partir du dernier palier atteint lors du test incrémental, par exemple : si un participant finissait à 300 watts lors du TI alors cette puissance était multipliée par deux pour obtenir celle des sprints. Dans cet exemple, cela équivaut à 600 watts. Durant ce dernier test, il leur était demandé de pédaler le plus rapidement possible.

## *b) Mesures des paramètres cardiorespiratoires*

### (1) Échanges gazeux

Les échanges gazeux ont été mesurés à partir du dispositif Metalyzer 3B Cortex, avec son logiciel MetaSoft, relié directement au vélo (Monark, Lc4 Stockholm, Sweden). Cet appareil a permis d'obtenir par calorimétrie indirecte la consommation maximale en oxygène. Le système était calibré avant chaque session, en respectant les recommandations du constructeur avec une seringue de 3 l pour les volumes et une bouteille avec des concentrations de gaz connues pour les analyseurs de gaz (16% en  $\dot{V}O_2$  et 5% en  $CO_2$ ).

### (2) Les paramètres cardiaques

La fréquence cardiaque a été enregistrée au repos et à l'exercice (TDEx et ancillaire) par l'intermédiaire d'un cardiofréquencemètre Suunto (Suunto memory belt, suunto, vantaa, Finlande) enregistrant toutes les 5 secondes. Les données ont été analysées avec le logiciel Suunto training manager.

Un électrocardiogramme de repos était effectué à chaque début de session expérimentale d'exercice, ce dernier était effectué par un médecin du sport.

L'activité cardiaque était également mesurée durant la totalité des épreuves d'effort par dix électrodes reliées par l'électrocardiographe portatif (Custo médical, France). Le logiciel permettait au médecin d'apprécier l'évolution de l'activité cardiaque au cours des épreuves, et ainsi distinguer les éventuelles arythmies (figure ci-dessous)

### a) *Traitement des données cardiopulmonaires*

Les données cardiopulmonaires enregistrées en cycles à cycles via le système metalyzer (95 ® 3B, Cortex Biophysik GmbH, Germany), ont été exportées depuis le logiciel metasoft puis lissées en appliquant une moyenne mobile comprenant 7 cycles.

Afin de déterminer la  $\dot{V}O_{2max}$  nous avons moyenné les 30 dernières secondes d'enregistrement de la consommation en oxygène ( $\dot{V}O_2$ ) lors du test incrémental.

Le seuil ventilatoire 1 a été déterminé par le point auquel l'équivalent ventilatoire pour l'oxygène ( $VE/\dot{V}O_2$ ) commence à augmenter de façon non linéaire, alors que l'équivalent ventilatoire pour le dioxyde de carbone ( $VE/VCO$ ) reste inchangé et le rapport d'échange gazeux respiratoire ne dépasse pas 1.0 selon la méthode de Wasserman (Wasserman et al., 1973).

## 7. Pression artérielle

Les pressions systolique (PAS) et diastolique (PAD) humérales ont été enregistrées grâce à un tensiomètre automatique *Omron M3 V4 HEM-7131*, les mesures de la pression artérielle ont été faites au temps indiqué sur les figures 27-28. La pression artérielle moyenne (PAM) a été calculée à partir des valeurs de PAS et PAD par la formule suivante :

$$PAM = (PAS + 2 \times PAD) / 3$$

## 8. Température tympanique

La mesure de la température corporelle a été mesurée à l'aide d'un thermomètre auriculaire *Braun IRT 6020*.

## 7. Analyses sanguines

### *a) Lactate sanguin (exclusivement TDEx)*

Le lactate sanguin a été prélevé (T0, T50, T110 et à T180) à partir du bout du doigt et analysé sur le Lactate Pro 2 (Lactate Pro 2 (AKRAY Europe, Amstelveen, Pays-Bas) qui est un analyseur portable de point de soins qui fonctionne par détection ampérométrique enzymatique.

### *b) Glycémie*

**Étude TDEx** la glycémie a été mesurée à partir d'un échantillon veineux la technique et les outils utilisés sont résumés dans le tableau 11.







**Étude ancillaire** La glycémie capillaire a été mesurée à l'aide d'un glucomètre Accu-Chek® aviva (Roche Diagnostics, Rotkreuz, Switzerland), à jeun et en post-prandial lors des deux sessions expérimentales.

### *c) Analyses biochimiques et biologiques*

Les sessions expérimentales d'exercice débutaient par la mise en place d'un cathéter, posé dans le pli du coude au niveau de la veine antécubitale par une infirmière. Les temps de prélèvements étaient spécifiques aux paramètres évalués (tableau 11). Les dosages et analyses des marqueurs biologiques ont été effectués par deux structures distinctes :

- ✚ Par l'équipe de chercheurs de l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale de Pointe à Pitre en collaboration avec le laboratoire ACTES (paramètres hémostase, et dosage stress oxydatif).
- ✚ Par le laboratoire de biologie médicale agréé Bio Pôle Antilles (cf récapitulatif tableau ci-dessous).

**Tableau 11** Récapitulatif des biomarqueurs analysés en routine par le laboratoire agréé

Paramètres	Unités	Méthode	Tubes	Moment du prélèvement	Système d'analyse automate / kit
<i>Ionogramme : fonction rénale</i>					
Potassium	mmol/L	Electrode de selection ionique	 <b>Tube sec à gel</b>	T0, T50, T180	<u><b>ADVIA 1200/1800</b></u>
Sodium	mmol/L	Electrode de selection ionique			
Chlore	mmol/L	Electrode de selection ionique			
Réserve alcaline	mmol/L	Méthode enzymatique			
<i>Hémogramme</i>					
Hématocrite	%		 <b>Tube EDTA (Acide éthylène diamine tétra-acétique)</b>	T0, T180	<u><b>ADVIA 2120</b></u>
Volume globulaire moyen	fL				
CCMH	g/dl				
TCMH	pg				
Hémoglobine	g/dl				
Érythrocytes	T/L				
IDR	%				
<i>Marqueurs de rhabdomyolyse</i>					
Créatine phosphokinase (CK)	ng/mL	IFCC (1980)	 <b>Tube sec à gel</b>	T0, T50, T110, T180	<u><b>ADVIA 1200/1800</b></u>
Lactate déshydrogénase (LDH)	U/L	Pyruvate/NADH			
Créatine phosphokinase – myoglobine (CK-MB)	ng/mL	Chimiluminescence		T0, T50, T110, T180	<u><b>ADVIA Centaur</b></u> (Siemens Medical Solutions Diagnostics, Fernwald, Germany)
Myoglobine	ng/mL	Chimiluminescence		T0, T50, T180	
<i>Marqueurs de stress myocardique</i>					
NT-pro BNP	pg/ml	Chimiluminescence	 <b>Tube sec à gel</b>	T0, T50, T180	<u><b>ADVIA Centaur</b></u> (Siemens Medical Solutions Diagnostics, Fernwald, Germany)
Troponine	ng/mL	Chimiluminescence			
<i>Métabolisme glucidique</i>					
Glucose	mmol/L	Glucose Hexokinase enzymatic	 <b>Tube fluorure</b>	T0, T50, T110, T180	<u><b>ADVIA® 1800</b></u> Clinical Chemistry System (Siemens Healthcare Diagnostics, Eschborn, Germany)
Insuline	mmol/L	Electrode de sélection ionique	 <b>Tube sec à gel</b>	T0, T50, T110, T180	<u><b>ADVIA 1200/1800</b></u>
Cortisol	ng/ml	Chimiluminescence		T0, T50, T180	<u><b>ADVIA Centaur</b></u> (Siemens Medical Solutions Diagnostics, Fernwald, Germany).



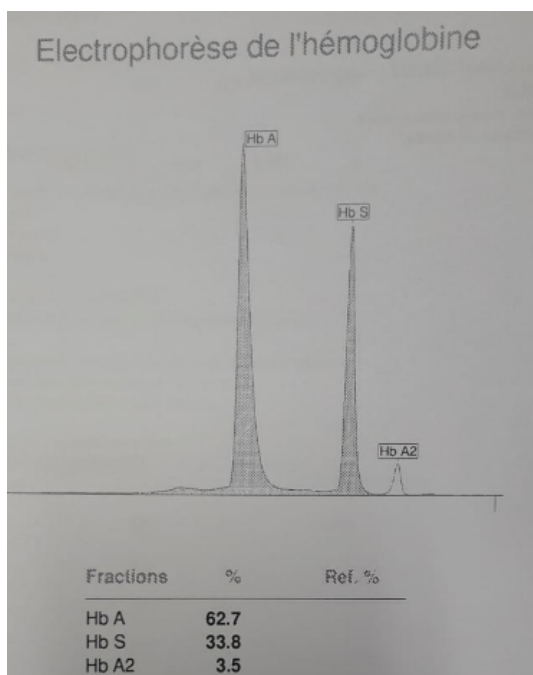
**Tableau 12** Volume sanguin totale prélevé par session et sur l'ensemble du protocole TDEx

	<b>Par prélèvement (ml)</b>	<b>Nombre de prélèvements par session</b>	<b>Par session (ml)</b>	<b>Pour les trois sessions expérimentales</b>
Statut hémoglobinémique	4.5			4.5
NFS	4.5	2	9	27
Glucose, lactate	4.5	3	13.5	40.5
Insuline, cortisol, ionogramme rhabdomyolyses cardiaque	4.5	3	13.5	40.5
Microparticules	4.5	3	13.5	40.5
Rhéologie sanguine	4.5	3	13.5	40.5

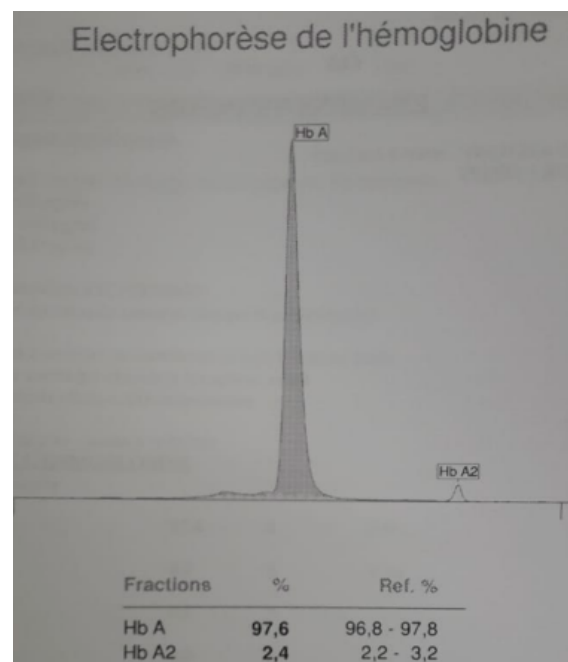
(1) Dépistage du trait drépanocytaire

Pour vérifier les génotypes HbAS et HbAA, des échantillons de sang ont été prélevés dans des tubes EDTA lors de la première visite expérimentale d'exercice (T0 cf figure design 28). Par la suite, ces échantillons ont été traités par un laboratoire habilité et compétent pour l'étude de l'hémoglobine. Ces échantillons ont été analysés dans un premier temps par focalisation isoélectrique, puis confirmés par électrophorèse sur gélose au citrate, en utilisant un système d'électrophorèse capillaire automatisé (Sebia, Parc Technologique Leonard de Vinci, France). Les participants étaient considérés comme étant PTDs lorsque la présence d'HbS était détectée. L'exemple de deux résultats obtenus sont présentés ci-dessous :

(A) Exemple : PTD



(B) Exemple : CTL



**Figure 33** Résultat obtenu après électrophorèse, (A) chez un PTD certifiant la présence HbS et (B) chez un CTL certifiant l'absence de cette HbS

(2) Paramètres hématologiques : L'hémogramme

L'hémogramme a été analysé au repos (T0) et durant la récupération (T180). L'hémogramme ou numération de la formule sanguine, constitue l'examen à la fois quantitatif et qualitatif des éléments figurés du sang. Cela comprend (Tableau 11) :

- ✚ Hémogramme : hématocrite, hémoglobines, taux érythrocytes, constantes calculées de Wintrobe Volume Globulaire Moyen (VGM), Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (CCMH).
- ✚ Formule leucocytaire : leucocytes, neutrophiles, basophiles, éosinophiles, lymphocytes
- ✚ Plaquettes

### (3) Paramètres hémorhéologiques

Nous avons évalué certains modulateurs hémodynamiques, à savoir les paramètres hémorhéologiques, en se basant sur le principe que l'écoulement sanguin est influencé par la pression artérielle et les résistances périphériques. Sachant que les résistances périphériques sont elles-mêmes dépendantes du diamètre, de la longueur des vaisseaux mais également des propriétés viscoélastiques des cellules circulantes les plus abondantes, les érythrocytes. Le sang étant un liquide non newtonien, sa viscosité n'est pas constante et est dépendante de plusieurs facteurs qui, lorsqu'ils sont affectés, impactent l'écoulement sanguin. Afin de mieux caractériser la fonction microvasculaire chez les PTDs, nous avons mesuré la viscosité sanguine et les facteurs déterminants : hématocrite, les propriétés érythrocytaire (déformabilité et agrégabilité)

#### i. Prélèvements

Pour l'étude des paramètres hémorhéologiques, le sang veineux était recueilli dans deux tubes d'EDTA. Par la suite, toutes les analyses ont été conduites dans les 2 heures suivant le prélèvement, conformément aux directives de normalisation internationale des techniques/mesures de rhéologie sanguine (Baskurt et al., 2009).

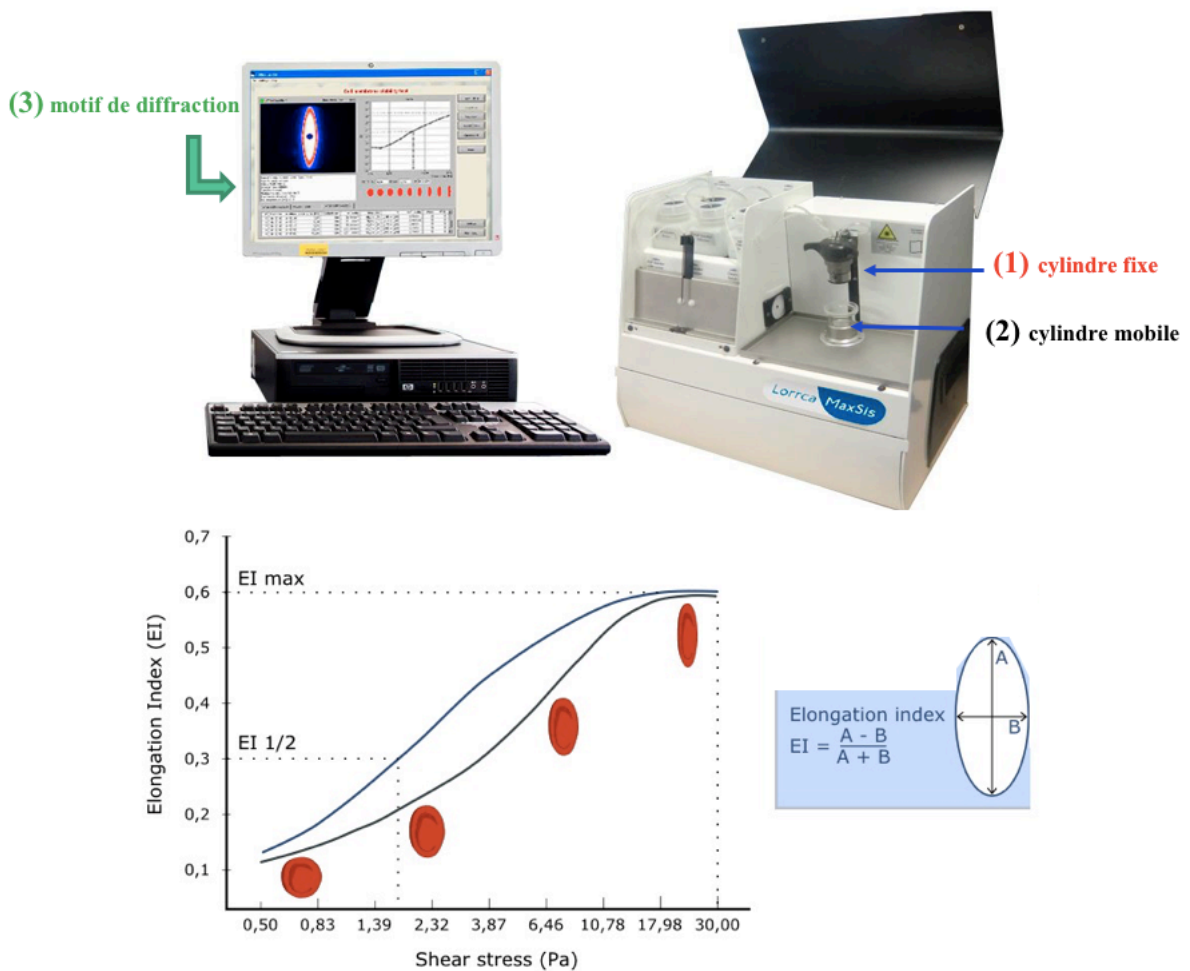
#### ii. Mesure de la viscosité sanguine

La viscosité sanguine étant dépendante des contraintes de cisaillement il est possible de l'évaluer à l'aide d'un viscosimètre en modulant les vitesses de cisaillement. Ainsi la viscosité du sang a été déterminée à l'hématocrite natif, et à plusieurs vitesses de cisaillement : 11,25, 22,5, 45, 90 et 225 s<sup>-1</sup> en utilisant un viscosimètre à cône/plan (Brookfield DVII+ avec tige CPE40, Brookfield Engineering Labs., Natick, MA, USA).

iii. Mesure de la déformabilité

La déformabilité cellulaire désigne la capacité à moduler leur forme en réponse aux contraintes de cisaillement (déformations). Elle est essentielle pour la perfusion des tissus microvasculaires (Chien, 1987). Cette capacité est un modulateur majeur de la viscosité sanguine pour des contraintes de cisaillement élevées, que l'on retrouve au sein de la macrocirculation.

Pour ce travail de thèse, la déformabilité des globules rouges (GR) a été déterminée à 37 °C (température physiologique) par diffraction laser (ektacytométrie), à l'aide de l'analyseur cellulaire rotatif optique assisté par laser (LORRCA, RR Mechatronics, Hoorn, Pays-Bas). La technique consiste à évaluer l'élongation des GRs, à des contraintes de cisaillements croissantes 0,30 à 30 Pa.



**Figure 34** Ektacytométrie avec sa courbe d'évolution d'élongation des GRs en fonction des contraintes de cisaillement.

L'ektacytomètre (LORRCA) possède un système de cisaillement Couette composé de deux cylindres : un intérieur fixe (1) et un extérieur transparent rotatif (2). L'espace qui sépare les deux cylindres de  $\sim 0,3$  mm, permet de contenir une solution diluée de globules rouges dans un milieu visqueux (5 ml de polyvinylpyrrolidone) (Hardeman et al., 1994). Le cylindre interne fixe possède un faisceau laser qui est projeté à travers la suspension de GR dans l'espace et le motif de diffraction résultant (circulaire ou elliptique) est projeté à l'écran (3). L'image de ce diagramme de diffraction est capturée et analysée par un logiciel dédié.

L'index d'élongation peut être ainsi mesuré. Plus les contraintes de cisaillement augmentent (rotation du cylindre mobile) et plus l'index d'élongation augmente ce qui traduit une bonne capacité cellulaire à se déformer sous les contraintes. *A contrario*, lorsque l'index d'élongation est réduit à des niveaux de contraintes élevés, cela traduit une moindre déformabilité des GRs qui est souvent associée à un état pathologique. L'exemple le plus courant est celui de la drépanocytose (Rabai et al., 2014).

#### iv. Mesure de l'agrégation et désagrégation des GRs

L'agrégation désigne le phénomène réversible des GRs à former des empilements semblables à des pièces de monnaies en 2D/3D. Ce phénomène se produit spontanément à bas taux de cisaillement, il joue par conséquent un rôle majeur dans l'accroissement de la viscosité sanguine dans la microcirculation.

L'agrégation des GRs a été déterminée à 37 °C par syllectométrie, c'est-à-dire par rétrodiffusion laser en fonction du temps, en utilisant le même dispositif de couette LORRCA après ajustement de l'hématocrite à 40 %. Cette technique consiste à mesurer la variation d'intensité de lumière rétrodiffusée de GR en suspension au cours du temps.

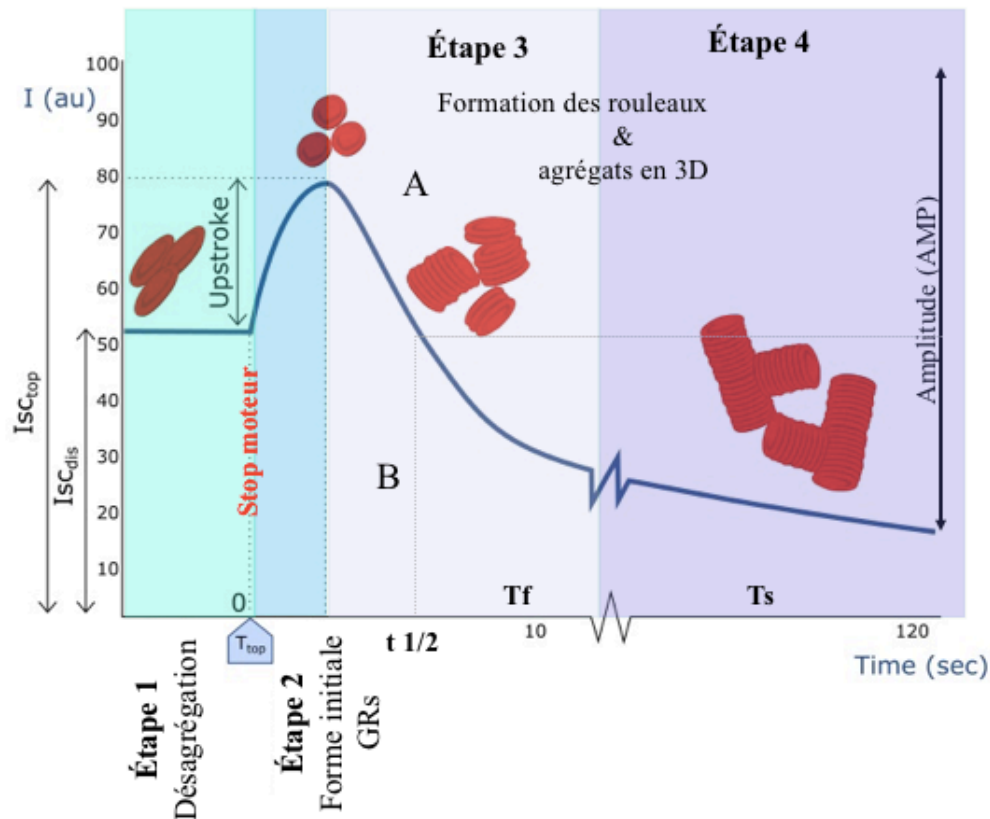


Figure 35 Sylléctogramme image adaptée de (Dobbe et al., 2003; Hardeman et al., 2001)

Sur le Sylléctogramme on distingue quatre phases :

Étape 1 : Consiste à appliquer un taux de cisaillement suffisamment élevé pour entraîner une désagrégation complète des GRs.

Étape 2 : Arrêt brutal du moteur, les GRs allongés et orientés dans le sens de l'écoulement retrouvent leur forme initiale biconcave. Étape 3 : Les agrégats de GRs commencent à apparaître, ces empilements semblables à des piles de monnaies sont représentés par la diminution de la rétrodiffusion de la lumière (plus la lumière réfléchie diminue et plus les agrégats sont importants). Étape 4 : à mesure que le temps s'écoule (à bas cisaillement) les empilements se renforcent et forment des rouleaux en 3D ce qui se traduit par la réduction de la rétrodiffusion de la lumière.

La syllectométrie fournit un syllectogramme avec les divers indices analysés (cinétique, avidité amplitude et le modèles d'agrégats) :

✚ Indice d'agrégation AI (en %), est calculé à partir de la formule suivante :

$$AI = A / (A + B) \times 100.$$

Calculé à partir des aires au-dessus ou sous la courbe obtenue après 10 sec après l'arrêt du moteur.

✚ L'étendue totale d'agrégation est indiquée par l'amplitude AMP (en, au)

✚ Durée de formation de 50 %  $t_{1/2}$  (en, sec)

✚ Temps nécessaire à la formation des premiers rouleaux T<sub>fast</sub> (en, sec) (étape 3)

✚ Temps nécessaire à la formation des rouleaux en 3D T<sub>slow</sub> (en, sec) (étape 4)

✚ Le seuil de désagrégation des GR ( $\gamma_{thr}$ , en s-1), c'est-à-dire la force/robustesse nécessaire pour désagréger les agrégats de GRs formés, a été déterminé en utilisant une procédure de réitération.

#### (4) Mesure du stress oxydatif et NO

La quantification du stress oxydatif ne peut se faire par une seule et unique mesure. Cela implique des méthodes diverses et complexes qui vont de la quantification des radicaux libres aux produits d'oxydation. Pour déterminer le stress oxydatif nous avons fait le choix de doser certains produits d'oxydation et l'activité de certaines enzymes dans le compartiment plasmatique :

- Les produits avancés de l'oxydation des protéines (AOPP)
- Le malondialdéhyde (MDA)
- La nitrotyrosine
- Le myéloperoxydase (MPO)
- L'oxyde nitrique NO
- La heat schok proteine (70)

Concernant les défenses anti-oxydantes nous avons quantifié l'activité des enzymes anti-oxydantes de première ligne : catalase, superoxyde dismutase. Au niveau non enzymatique, le glutathion sous sa forme réduite et oxydée a été dosée dans le compartiment intra-érythrocytaire.

(a) Produits d'oxydations cellulaires

Les marqueurs pro-oxydants plasmatiques ont été obtenus à partir d'échantillons EDTA. Ces échantillons ont été conservés à -80 °C jusqu'à leur analyse.

**(AOPP)**

L'oxydation des chaînes polypeptidiques peut engendrer leur fragmentation. L'ensemble des produits formés par l'interaction entre les espèces réactives à l'oxygène et les protéines constitue les produits d'oxydations avancées. Leur concentration est augmentée en cas de stress oxydatif accru. La concentration plasmatique en produits protéiques d'oxydation avancée (AOPP) a été déterminée à l'aide d'une méthode semi-automatique et du kit de dosage des AOPP (OxiSelect™ AOPP Assay Kit, Cell Biolabs, Inc.) (Witko-Sarsat et al., 2003).

**MDA**

Le dosage de malondialdéhyde MDA est le marqueur le plus utilisé pour quantifier la peroxydation lipidique, qui est également un indice de stress oxydatif accru lorsque les taux sont augmentés. Il est considéré comme le témoin de l'oxydation des acides gras polyinsaturés. Le taux de MDA plasmatique a été déterminé à l'aide d'une méthode basée sur les réactions de l'acide thiobarbiturique (TBA) et la formation d'adduits MDA-TBA quantifiés par fluorométrie (Ex/Em = 532/553 nm) (ab118970 Assay Kit, Abcam®).

**MPO**

Les niveaux de protéine myéloperoxydase (MPO) plasmatique ont été quantifiés par la technique ELISA (ab119605 Kit, Abcam®).

(b) Dosage des marqueurs du métabolisme du NO

La nitrotyrosine plasmatique, évaluée par le produit final de la nitration des protéines induite par le peroxy-nitrite, a été mesurée par Elisa (Kit av210603, Abcam®).

Les produits finaux du monoxyde d'azote (NO) plasmatique ont été déterminés après la conversion enzymatique du nitrate en nitrite par la nitrate réductase et la détection colorimétrique du nitrite par la méthode de Griess (Kit ADI-917-020, Enzo).



(c) HSP7

La protéine plasmatique de choc thermique 70 (HSP70) a été mesurée avec le kit haute sensibilité ENZ-KIT-101 (Enzo) selon les instructions du fabricant.

(d) Défenses anti-oxydantes

**Non-enzymatique**

Les culots de GR provenant d'échantillons de sang au citrate ont été traités avec quatre volumes d'une solution aqueuse contenant 5 % d'acide métaphosphorique. Les lysats obtenus à partir de 50 µl de GR ont été conservés à -80 °C jusqu'au dosage. La mesure colorimétrique du glutathion réduit (GSH) et oxydé (GSSG) des GR est basée sur la réaction du groupe sulfhydryle du GSH avec le réactif d'Ellman, donnant un produit de couleur jaune (kit ADI-900-160, Enzo).

**Enzymatique**

Les culots globulaires des échantillons de sang EDTA ont été lysés dans quatre volumes d'eau glacée. Les aliquotes de lysats ont été conservées à -80 °C, jusqu'à ce qu'elles soient utilisées pour l'évaluation de la défense antioxydante enzymatique par le biais des activités superoxyde dismutase (SOD) et catalase (Cat) des GRs.

**Superoxyde dismutase**

L'activité SOD intra-érythrocytaire a été déterminée par un test colorimétrique basé sur sa capacité à piéger les radicaux superoxydes générés par la xanthine oxydase et l'hypoxanthine, qui forment une réaction colorimétrique en présence d'un sel de tétrazolium (Kit 706002, Cayman Chemical).

**Catalase**

L'activité catalase intra-érythrocytaire a également été déterminée par un test colorimétrique basé sur la formation d'un formaldéhyde coloré induit par la réaction de la catalase avec le méthanol en présence d'un chromogène (Kit 707002, Cayman Chemical).

## C. Analyses statistiques

### a) *Étude TDEx*

Après avoir vérifié la normalité de nos données, nous avons effectué des analyses de variance (ANOVA) à mesure répétées à deux ou trois voies.

Pour l'ensemble des biomarqueurs (cf tableau ci-dessous) selon l'ANOVA à mesures répétées à trois voies nous avons pu déterminer l'interaction entre les conditions environnementales (chaud versus neutre), le temps (T0, T50, T110 et T180) ainsi que le statut hémoglobinémiq (PTDs versus CTLs). Une ANOVA à mesures répétées à deux voies pour la puissance maximale aérobie nous a permis de déterminer l'interaction (conditions x groupes).

Les données de la fonction microvasculaire obtenues durant les sessions de repos et exercice, ont été analysées séparément selon une ANOVA à mesures répétées à trois voies, comprenant le groupe (PTDs versus CTLs), les conditions environnementales (chaud versus neutre) et les phases (baseline, pic et plateau).

**Tableau 13** Résumé des variables analysées et choix des tests statistiques effectués

Paramètres	ANOVA à mesure répétées
Données exercice : $\dot{V}O_2$ max, PMA, FCmax	Groupes x2 (CTLs vs PTDs), conditions x3 (ENRN, ECRN, ECRC)
Hématologie	Groupes x2 (CTLs vs PTDs), conditions x3 (ENRN, ECRN, ECRC), temps x2 (T0 vs T180)
Paramètres hémorhéologiques stress oxydant, cortisol, myoglobine, NT-pro BNP,	<p><b>2 analyses</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Groupes x2 (CTLs vs PTDs), conditions x3 (ENRN, ECRN, ECRC), temps x2 (T0 vs T50)</li> <li>- Groupes x2 (CTLs vs PTDs), conditions x3 (ENRN, ECRN, ECRC) T180 récupération</li> </ul>
Biomarqueurs de dommage musculaire (LDH, CK, CK-MB, ratio, glucose, insuline et lactate	<p><b>2 analyses</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Groupes x2 (CTLs vs PTDs), conditions x3 (ENRN, ECRN, ECRC), temps x2 (T0 vs T50)</li> <li>- Groupes x2 (CTLs vs PTDs), conditions x3 (ENRN, ECRN, ECRC), temps x2 (T110 vs T180)</li> </ul>
PAM, Tcut, Ttymp,	Groupes x2 (CTLs vs PTDs), conditions x3 (ENRN, ECRN, ECRC), temps x3 (T0 vs T50 vs T180)
Fonction microvasculaire : Perfusion (valeurs absolue, CVC) Hyperhémie thermique : pic et plateau (valeurs absolues, pourcentages de la perfusion, CVC) Analyses spectrales : (bandes fréquentielles)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Repos : groupes x2 (CTLs vs PTDs), conditions x2 (21 °C vs 31 °C)</li> <li>- Période post-exercice : groupes x2 (CTLs vs PTDs), conditions x3 (ENRN, ECRN, ECRC), temps x2 (T50 vs T180)</li> </ul>

## *b) Étude ancillaire*

Des analyses de variance à mesures répétées ont été effectuées également pour les variables pertinentes comme suit, avec trois facteurs : température environnementale avec deux niveaux (chaud et neutre), état prandial avec deux niveaux (pré et post), et phases de mesure avec trois niveaux (ligne de base, pic et plateau) ; ou avec deux facteurs : conditions environnementales avec deux niveaux (chaud et témoin), dans l'état prandial avec deux niveaux (pré et post).

Comme les effets de l'interaction température environnementale x repas x sexe sur les variables principales étaient significatifs, les données des hommes et des femmes ont été séparées pour des analyses statistiques indépendantes afin de caractériser au mieux les profils.

Toutes les analyses statistiques (TDEx et ancillaire) ont été conduites à partir du logiciel statistique SPSS (SPSS Inc, Chicago, IL, USA). La sphéricité des données a été testée à l'aide du test de Mauchly. Si l'hypothèse de sphéricité était violée, la correction de Greenhouse-Geisser a été utilisée pour ajuster les degrés de liberté. La signification statistique a été fixée à  $P < 0.05$ . Lorsque les effets d'interactions étaient significatifs, nous avons réalisé des tests appariés (post-hocs) de Turkey. Toutes les données sont rapportées en tant que moyenne  $\pm$  SD pour les valeurs présentées dans les tableaux, et l'erreur standard à la moyenne (SEM) est présentée sur les graphes.

---

# **RESULTATS**

---

## A. Etude ancillaire

Les paramètres anthropométriques tels que l'âge, la taille, la masse corporelle, l'indice de masse corporelle mais également les pressions artérielles systolique et diastolique des participants sont présentés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 14** Caractéristiques générales des participants de l'étude ancillaire

Variables	Age (ans)	Taille (m)	Masse corporelle (kg)	Indice de masse corporelle (kg/m <sup>2</sup> )	Masse grasse (%)	Pression systolique (mmHg)	Pression diastolique (mmHg)
<b>Femmes</b> <i>N=20</i>	22.1 ± 3.1	1.64 ± 0.06	59.1 ± 7.9	22.0 ± 2.2	24.8 ± 6.4	111 ± 8	74 ± 4
<b>Hommes</b> <i>N=12</i>	20.0 ± 1.3	1.79 ± 0.07	72.9 ± 11.3	22.6 ± 2.4	10.9 ± 6.0	116 ± 11	74 ± 10

Les valeurs sont représentées sous forme de moyenne et SD.

La glycémie (tableau ci-dessous) n'était pas différente entre les hommes et femmes dans cette étude, et de manière non surprenante la glycémie était plus élevée en post-prandial (tous les  $P < 0.012$ ) les valeurs de glycémie étaient plus élevées en environnement chaud pour tous les participants ( $P < 0.001$  pour les femmes et les hommes). Les pressions artérielles moyennes n'étaient pas différentes entre les participants, les différentes conditions environnementales ni même après l'ingestion d'un repas (tous les  $P > 0.111$ ).

Chez les hommes, la température tympanique était plus élevée en post-prandial qu'en pré-prandial indépendamment des conditions environnementales ( $P < 0.001$ ) et la température cutanée était plus basse en post-prandial comparativement au pré-prandial dans la condition environnementale neutre (20 °C). En environnement chaud (31 °C) nous avons observé une augmentation de la température cutanée en post-prandial comparativement au pré-prandial.

Chez les femmes, la température tympanique et cutanée était plus basse en post-prandial comparativement au pré-prandial dans la condition environnementale neutre (20 °C). En environnement chaud (31 °C) nous avons observé une augmentation de la température cutanée en post-prandial comparativement au pré-prandial.

**Tableau 15** Comparaison de la glycémie, PAM, T°cut et T°tymp à jeun et en post-prandial, en environnement chaud (31 °C) vs en environnement neutre (20 °C), chez les hommes et chez les femmes.

	20 °C		31 °C		P
	A jeun	Postprandial	A jeun	Postprandial	< 0.05
<b>Glycémie (g/L) femme</b>	0.90 ± 0.11	1.12 ± 0.15*	0.94 ± 0.11	1.30 ± 0.14*#	Condition P = 0.012 Repas P < 0.001 Condition x temps P = 0.006
<b>Glycémie (g/L) homme</b>	0.90 ± 0.08	1.11 ± 0.14*	0.96 ± 0.06	1.32 ± 0.18*#	Condition P = 0.001 Temps P < 0.001 Condition x temps P = 0.015
<b>Pression artérielle moyenne (mmHg) femme</b>	86 ± 6	86 ± 7	85 ± 8	84 ± 9	NS
<b>Pression artérielle moyenne (mmHg) homme</b>	88 ± 9	87 ± 6	90 ± 8	87 ± 7	NS
<b>T° tympanique (°C) femme</b>	35.9 (0.5)	35.8 (0.7)	36.5 (0.5)	36.9 (0.3)	Condition P < 0.001 Condition x temps P = 0.003
<b>T° tympanique (°C) homme</b>	35.8 (0.5)	35.9 (0.6)	36.4 (0.4)	36.8 (0.4)	Condition P < 0.001
<b>T° cutanée (°C) femme</b>	27.9 (3.2)	24.1 (1.8)	34.5 (1.9)	35.9 (0.7)	Condition P < 0.001 Temps P = 0.014 Condition x temps P < 0.001
<b>T° cutanée (°C) homme</b>	25.0 (2.5)	23.1 (1.6)	34.8 (0.7)	35.6 (0.6)	Condition P < 0.001 Condition x temps P < 0.001

Les valeurs sont représentées sous forme de moyenne et SD

(\*) P < 0.05 vs. Pre-prandial dans la même condition environnementale

(#) P < 0.05 vs. Dans la condition à 20 °C

Les valeurs de perfusion ont été affectées dans toutes les phases, c'est à dire avant et après le protocole de chauffage local par la condition environnementale (effet simple de la condition :  $P < 0.001$ ) chez les femmes (*figure 39*) et les hommes (*figure 38*), avec des valeurs plus élevées à 31 °C qu'à 20 °C.

Nous avons observé un effet simple de la phase (ligne de base, pic et plateau) caractérisant la réactivité au stress thermique local chez les femmes ( $P < 0.001$ ) et les hommes ( $P < 0.001$ ), avec des valeurs de perfusion attendues plus élevées lors du chauffage local comparativement à la ligne de base.

L'interaction phase x condition environnementale était significative chez les femmes ( $P = 0.002$ ) et les hommes ( $P = 0.001$ ), avec une perfusion moins marquée à 20 °C qu'à 31 °C.

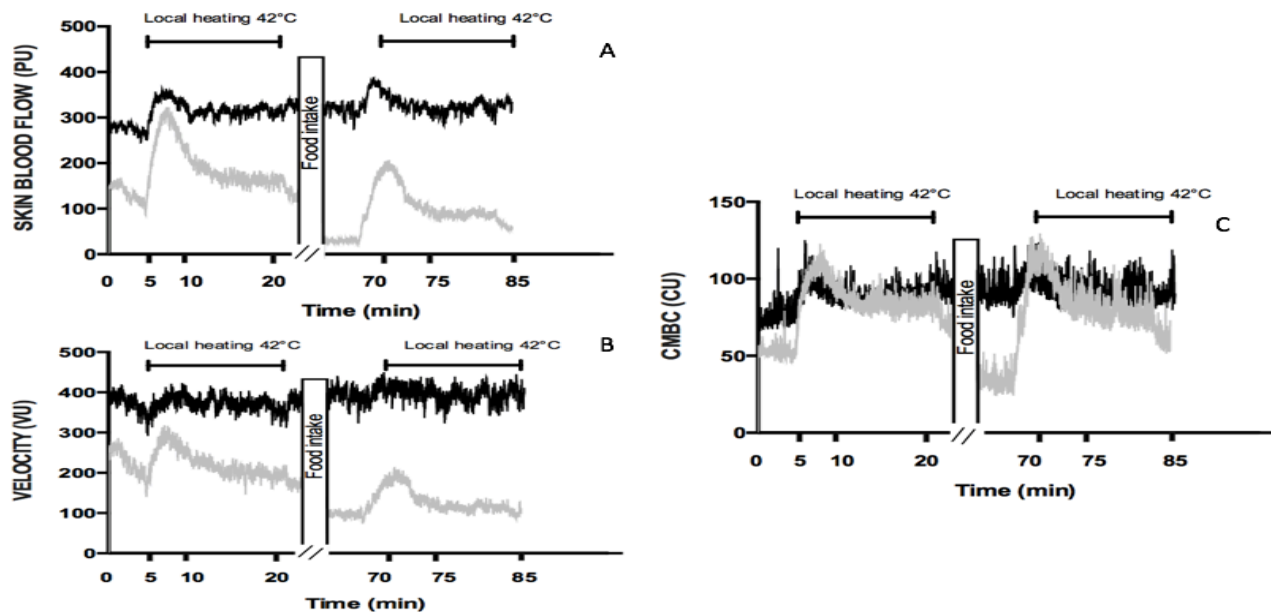
Nous avons constaté chez les hommes une différence significative entre l'état de jeun et post-prandial avec des valeurs de perfusion plus basse en post-prandial ( $P = 0.007$ ).

Chez les femmes les valeurs de perfusion étaient plus basses en post-prandial comparé au pre-prandial dans la condition environnementale à 20 °C ( $P < 0.001$ ). Nous avons également observé un effet d'interaction entre le repas et la condition environnementale, avec des valeurs de perfusion plus élevées à 31°C comparé à 21 °C en post-prandial ( $P = 0.017$ ),

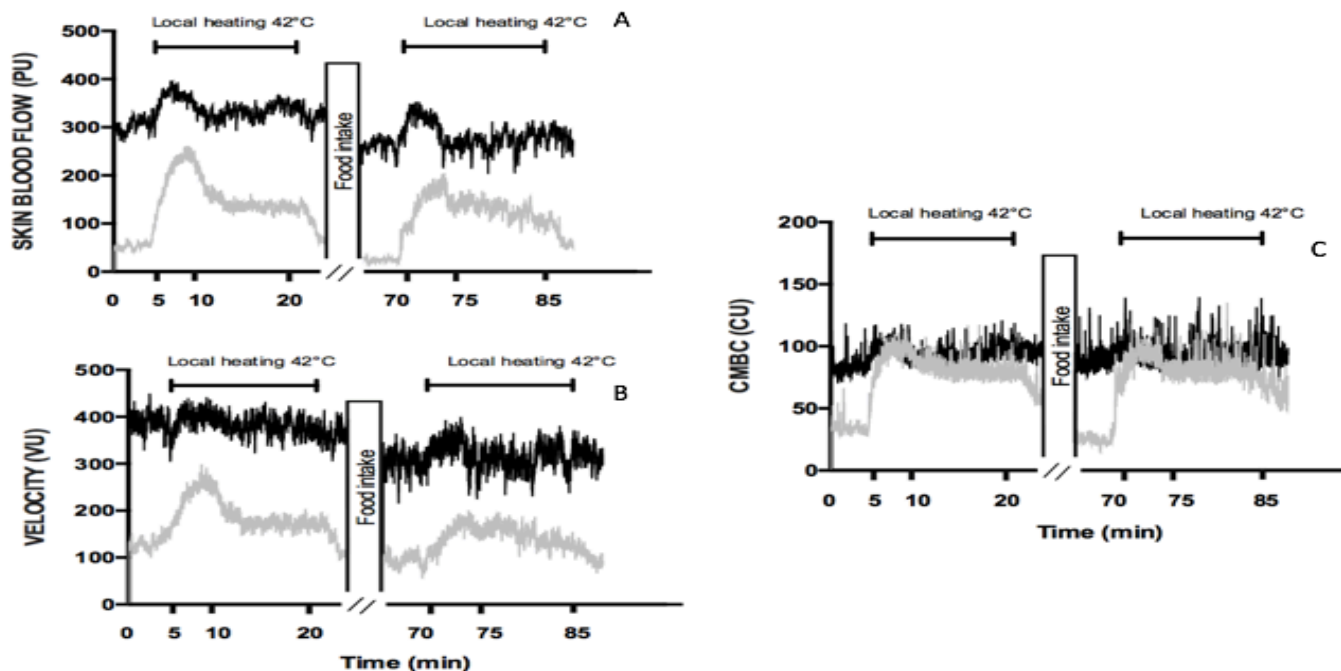
L'analyse de la variance de la perfusion en réponse au protocole de chauffage local pré et postprandial et dans les deux conditions environnementales n'a révélé aucune autre interaction significative.

Les variations de la perfusion sont représentées sur les tracés ci-dessous. Ces tracés ont été réalisés en prenant la moyenne point par point sur la totalité de la durée d'enregistrement chez les femmes (*figure 36*) et chez les hommes (*figure 37*).

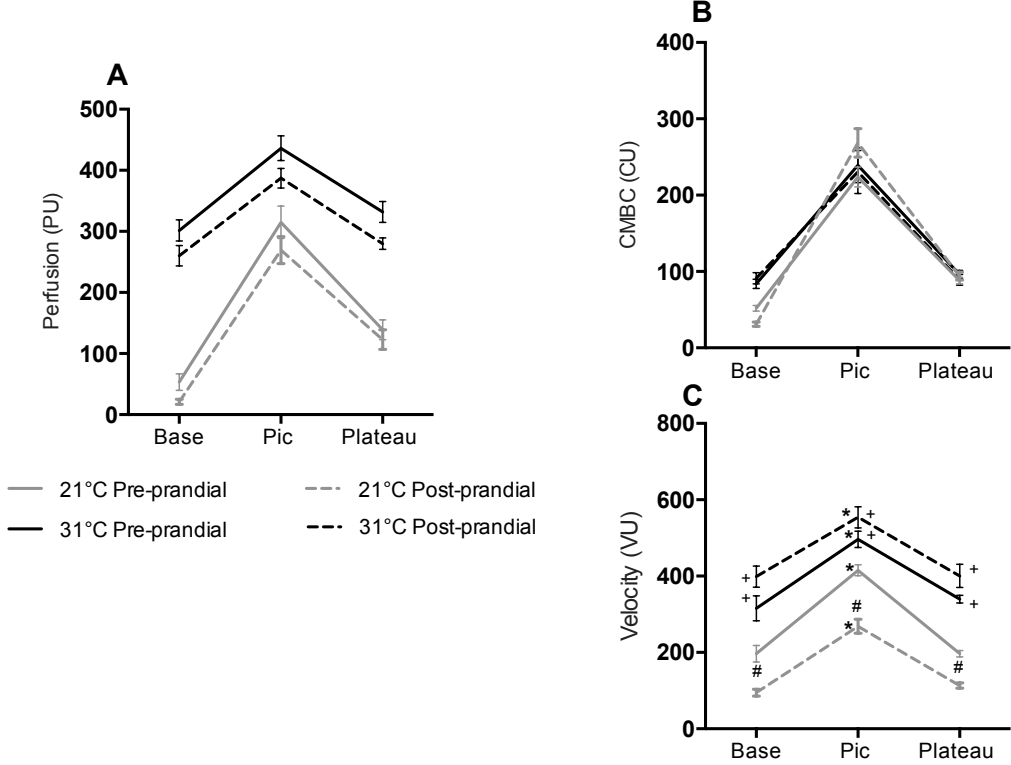




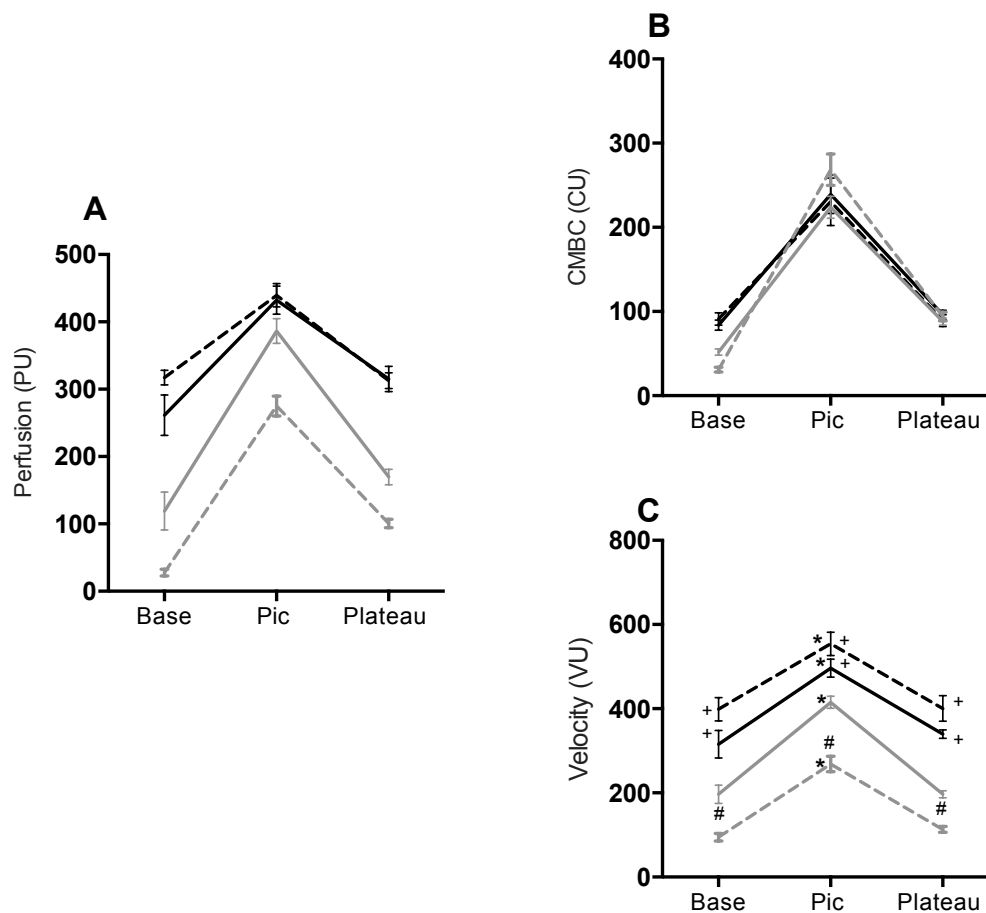
**Figure 36.** Les tracés moyennés de perfusion (PU) et ses déterminants en réponse au protocole de chauffage local chez les femmes en pré versus post-prandial à 20 °C (courbes grises) et à 31 °C (lignes noires).



**Figure 37.** Perfusion (PU) et ses déterminants en réponse au protocole de chauffage local chez les hommes en pré versus post-prandial à 20°C (courbes grises) et à 31°C (lignes noires).



**Figure 38** Perfusion (PU) et ses déterminants en réponse au chauffage local chez les hommes en pré (lignes continues) et post-prandial (lignes pointillées) à 20 °C (lignes grises) et à 31 °C (lignes noires).



**Figure 39** Perfusion (PU) et ses déterminants en réponse au chauffage local chez les femmes en pré (lignes continues) et post-prandial (lignes pointillées) à 20 °C (lignes grises) et à 31 °C (lignes noires). Les résultats des post-hocs sur la vélocité :

(\*)  $P < 0.05$  vs. ligne de base dans la même condition environnementale

(#)  $P < 0.05$  vs. pré-prandial dans la même condition environnementale

(+)  $P < 0.05$  vs. dans la condition à 20 °C

## B. Étude TDEx

### 1. Caractéristiques générales des participants.

Dans le cadre du projet *Trait drépanocytaire et exercice* décrit dans les paragraphes précédents, 30 volontaires de sexe masculins ont été pré-selectionnés. Cependant sur les 30 jeunes participants seulement 20 ont effectué la totalité des sessions expérimentales, et parmi les 20 participants, 9 d'entre eux comportaient un taux d'hémoglobine anormale (HbS). Les caractéristiques générales des participants sont présentées dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 16** Caractéristiques anthropométriques des participants

	<i>PTDs (N =9)</i>	<i>CTLs (N = 11)</i>
<i>Age (années)</i>	21 ± 3	21 ± 2
<i>Taille (cm)</i>	182 ± 6	181 ± 7
<i>Poids (kg)</i>	76.2 ± 6.9	73.8 ± 9.5
<i>Indice de masse corporelle (IMC, kg/m<sup>2</sup>)</i>	23.1± 1.9	22.4± 2.4

Les valeurs sont présentées en moyenne ± SD, la cohorte était scindée en fonction du statut hémoglobinémiq (AA ou CTLs représentent les participants homozygotes non porteurs, et AS ou PTDs représentent les participants hétérozygotes porteurs du trait drépanocytaire.

## 2. Performances, capacités cardiorespiratoires, température tympanique et cutanée

Les résultats des comparaisons des paramètres hémodynamiques (pressions artérielles, fréquences cardiaques), températures (corporelles et cutanées) au repos et à l'exercice, ainsi que les paramètres de performance entre les PTDs et les CTLs dans les différentes conditions environnementales sont présentées dans les tableaux ci-dessous. Nous avons montré (tableaux ci-dessous) que la fréquence cardiaque, la pression artérielle et la température cutanée ne différaient pas entre les deux groupes au repos et à l'exercice. Les paramètres de performance (PMA ;  $\dot{V}O_2\text{max}$ ), étaient également similaires entre les deux groupes. Aucune complication n'a été observée pendant les sessions expérimentales. La température cutanée a été affectée par les conditions environnementales ( $P < 0.001$ ) avec des valeurs plus élevées dans un environnement chaud qu'en environnement neutre pour les deux groupes. La température cutanée, était plus élevée au repos à 31 °C chez les PTDs par rapport aux CTLs ( $P = 0.034$ ), à l'exception de cette variable il n'y avait pas d'effet groupe simple ou d'interaction au repos ou à l'exercice ( $P > 0.068$ ).

**Tableau 17.** Valeurs au repos

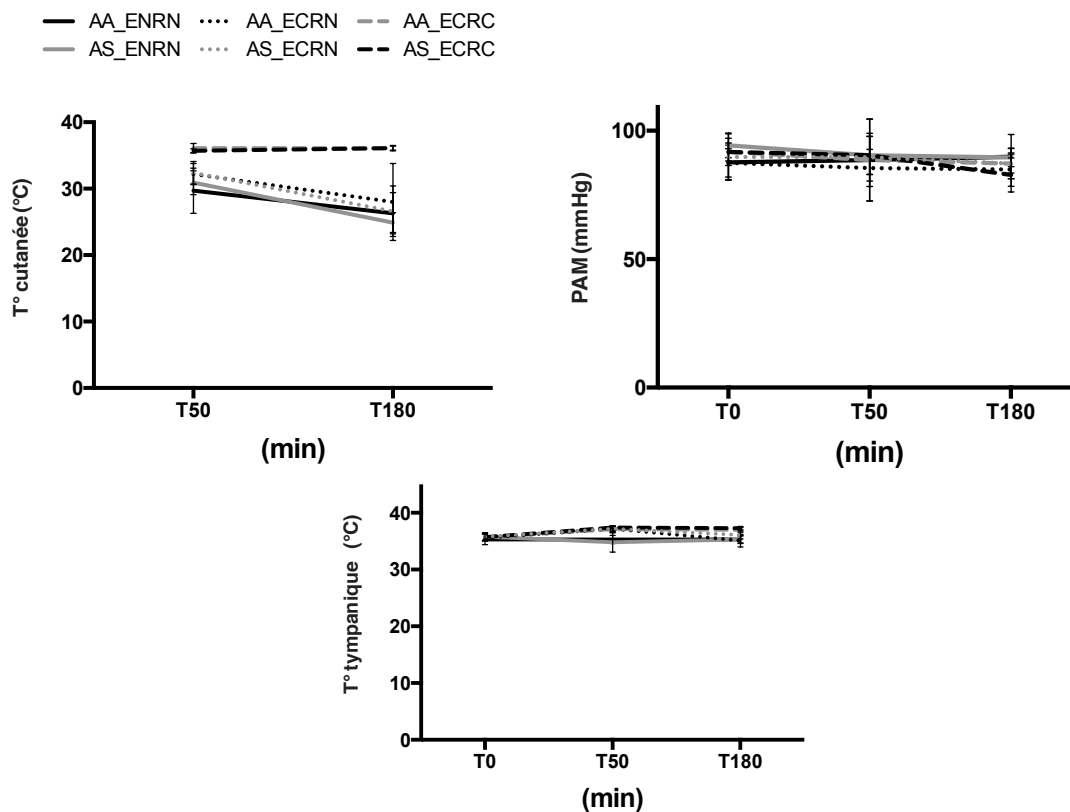
Paramètres	PTDs	CTLs	Groupe	Condition	Groupe x condition
FC 21 °C (bpm) n =5/9	62 (9)	60 (9)	0.385	0.230	0.210
FC 31 °C (bpm) n =5/9	67 (10)	60 (9)			
PAM 21 °C (mmHg)	89 (5)	88 (7)	0.521	0.417	0.289
PAM 31 °C (mmHg)	88 (6)	91 (6)			
T° tympanique 21 °C (°C)	36.1 (0.6)	35.6 (0.7)	0.068	<b>0.269</b>	<b>0.827</b>
T° tympanique 31 °C (°C)	36.6 (0.6)	35.8 (0.8)			
T° cutanée 21 °C (°C)	26.7 (4.9)	29.1 (3.7)	0.489	<b>&lt; 0.001</b>	<b>0.034</b>
T° cutanée 31 °C (°C)	35.1 (1.1)	33.9 (1.9)			

*FC fréquence cardiaque maximale, PAM pression artérielle moyenne, T° température.* Les valeurs sont présentées en moyenne  $\pm$  SD.

**Tableau 18.** Valeurs à l'exercice

Paramètres	PTDs	CTLs	Groupe	Condition	Groupe x condition
<b>FC max (bpm)</b> 21 °C n = 8/10	177 (17)	180 (10)	0.434	0.778	0.778
<b>FC max (bpm)</b> 31 °C n = 8/10	177 (11)	182 (10)			
<b>PA post-exercice 21 °C (mmHg)</b>	92 (8)	92 (9)	0.890	0.531	0.807
<b>PA post-exercice 31 °C (mmHg)</b>	90 (7)	89 (15)			
<b>T ° cutanée post-exercice 21 °C (°C)</b>	30.9 (1.8)	29.7 (3.4)	0.545	<b>&lt; 0.001</b>	0.217
<b>T ° cutanée post-exercice 31 °C (°C)</b>	35.7 (0.3)	36.1 (0.7)			
<b><math>\dot{V}O_2</math>max 21 °C (ml.min<sup>-1</sup>.kg<sup>-1</sup>)</b>	36.1 (5.7)	36.1 (7.8)	0.967	0.879	0.919
<b><math>\dot{V}O_2</math>max 31 °C (ml.min<sup>-1</sup>.kg<sup>-1</sup>)</b>	36.3 (4.4)	35.8 (5.7)			
<b>PMA 21 °C (W)</b>	248 (31)	258 (53)	0.563	0.517	0.980
<b>PMA 31 °C (W)</b>	243 (29)	252 (37)			

*FC fréquence cardiaque maximale, PA pression artérielle,  $\dot{V}O_2$ max consommation maximale en oxygène, T° cutanée température cutanée, PAM puissance maximale aérobie. Les valeurs sont présentées en moyenne ± SD.*



**Figure 40** Pression artérielle moyenne (mmHg), température tympanique et cutanée (°C) en pré-exercice (T0) immédiatement post-exercice (T50) et durant la récupération (T110 T180 comparés entre les PTDs (lignes grises) et les CTLs (lignes noires) dans les différentes conditions environnementales ENRN (lignes continues), ECRC (lignes discontinues) et en ECRN (lignes en pointillées). Les valeurs sont présentées en moyenne  $\pm$  SEM.

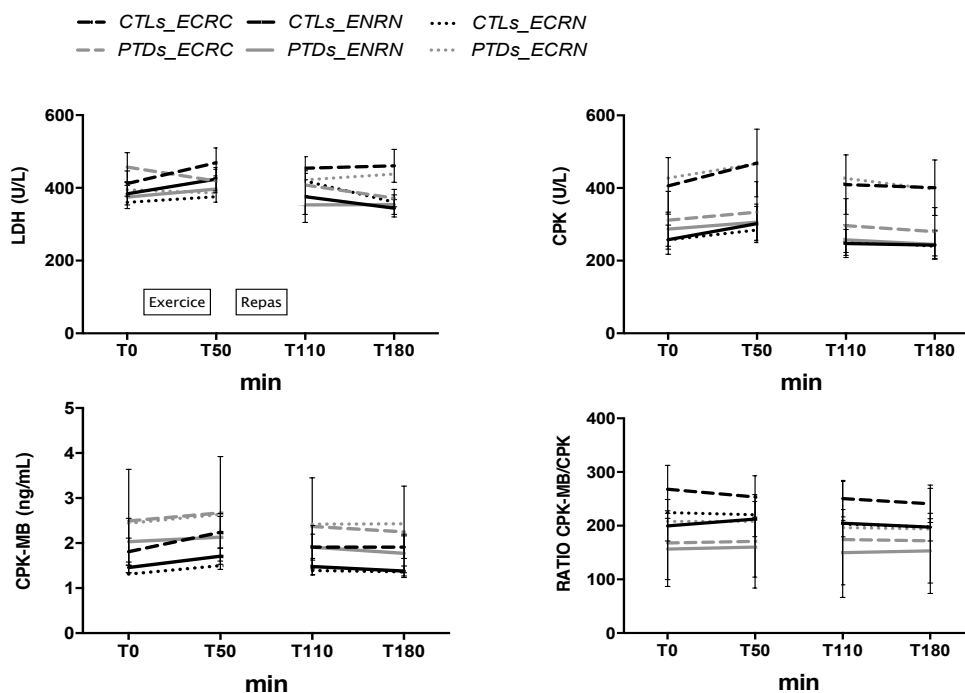
### 3. Caractéristiques biochimiques

#### a) *Biomarqueurs de rhabdomyolyse et d'atteinte cardiaque*

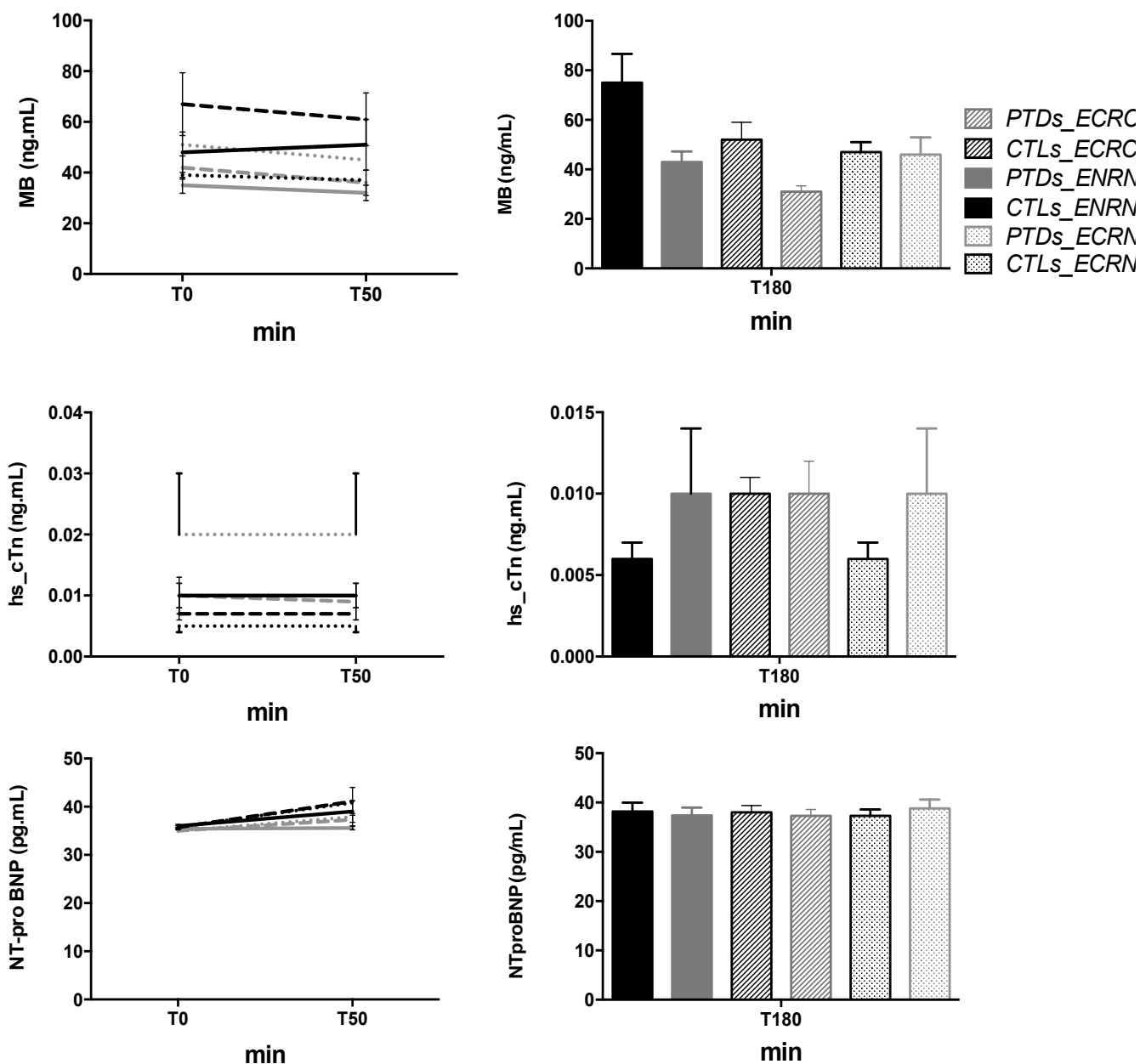
Les marqueurs des lésions musculaires et cardiaques n'ont pas été affectés par le statut hémoglobinémique (*figure 41*) (tous les  $P > 0.093$ ). Les concentrations de CPK, CPK-MB et NT-pro BNP ont augmenté ( $P < 0.001$  ;  $P < 0.001$  ;  $P = 0.022$  ; respectivement) et la concentration de myoglobine a diminué ( $P = 0.005$ ) à T50 comparé à T0 indépendamment des conditions environnementales pour l'ensemble des participants (PTDs, CTLs). A T180 la concentration de LDH a diminué comparativement à T110 ( $P = 0.015$ ).

Les conditions environnementales ont affecté la concentration plasmatique de LDH qui était supérieure dans la condition ENRN à T50 comparativement aux autres conditions ECRC et ECRN ( $P = 0.033$ ). Les mêmes résultats ont été observés au moment de la récupération, avec des valeurs plus élevées dans la condition ENRN pour la LDH et la myoglobine comparativement aux autres conditions ECRC et ECRN ( $P = 0.006$  ;  $P = 0.027$ ).

Un effet d'interaction était significatif comprenant temps x groupe x condition a été observé pour la CPK ( $P = 0.029$ ).







**Figure 41** Biomarqueurs de rhabdomyolyse (LDH, CPK Myoglobine) et biomarqueurs de l'atteinte cardiaque (CPK-MB, NT-pro BNP, troponine) en pré-exercice (T0) immédiatement post-exercice (T50) et durant la récupération (T110 T180 comparé entre les PTDs (lignes grises) et les CTLs (lignes noires) dans les différentes conditions environnementales ENRN (lignes continues), ECRC (lignes discontinues) et en ECRN (lignes en pointillées). Les valeurs sont présentées en moyenne  $\pm$  SEM.

### *b) Ionogramme*

Les concentrations plasmatiques de Cl<sup>-</sup>, Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup> et les réserves alcalines (tableau 19) n'étaient pas différentes entre les CTLs et les PTDs ( $P > 0.580$ ). On note pour l'ensemble des participants une diminution des concentrations plasmatiques de Cl<sup>-</sup>, K<sup>+</sup> et des réserves alcalines à l'issue du protocole d'exercice ( $P < 0.002$ ). Seules les concentrations plasmatiques de Cl<sup>-</sup> étaient diminuées à 21 °C comparé à 31 °C pour tous les participants de cette étude. Les analyses post-hocs pour les concentrations de Cl<sup>-</sup> et K<sup>+</sup> n'ont pas révélé de différence significative pertinente.

**Tableau 19** Comparaison des taux de sodium, potassium, chlore et de la réserve alcaline (Ionogramme) en pre à post-exercice entre les PTDs et les CTLs dans les différentes conditions environnementales.

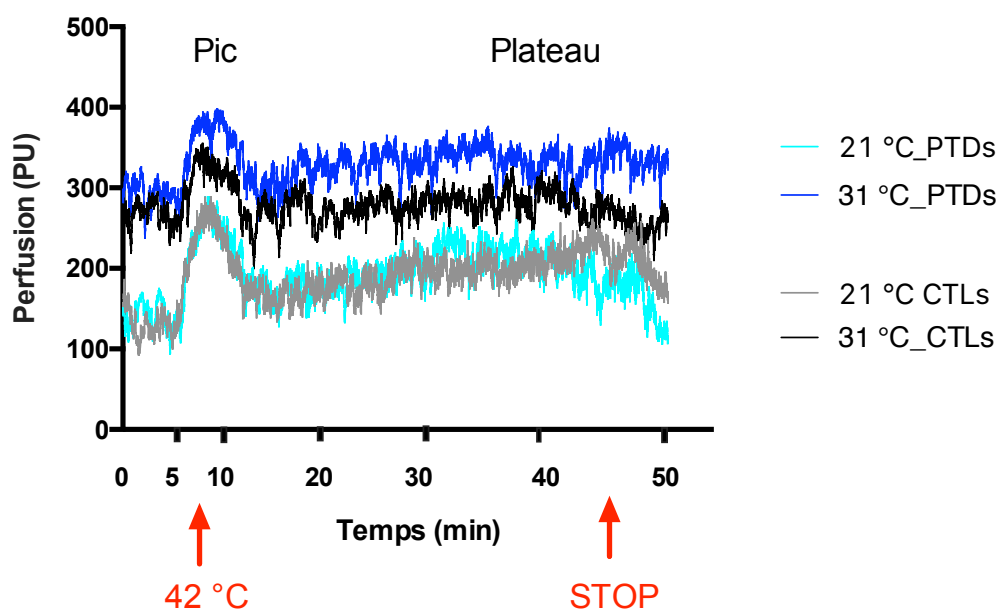
Marqueurs (LR)		21°C ENRN			31°C ECRC			31°C/21°C ECRN			Effets simple			Effets d'interactions	
		T0	T50	T180	T0	T50	T180	T0	T50	T180	Condition	Groupe	Temps	P < 0.05	P > 0.05
<b>Sodium (mmol/L)</b> <small>(139-146 mmol/L)</small>	CTL n=11	140 (1)	141 (2)	140 (2)	140 (1)	140 (2)	140 (3)	140 (1)	141 (2)	141 (2)	0.826	0.916	0.188	P > 0.168	
	PTD n=9	140 (2)	140 (2)	141 (1)	141 (1)	141 (2)	141 (2)	140 (1)	140 (2)	141 (1)					
<b>Potassium (mmol/L)</b> <small>(4.1-5.3 mmol/L)</small>	CTL n=10	4.4 (0.4)	4.2 (0.5)	4.8 (0.5)	4.5 (0.2)	4.0 (0.2)	4.3 (0.2)	4.4 (0.3)	4.1 (0.3)	4.5 (0.2)	0.209	0.288	< 0.001	Condition x temps x groupe <b>P = 0.012</b> Temps x groupe <b>P = 0.034</b> Condition x groupe : <b>P = 0.032</b> P > 0.142	
	PTD n=9	4.7 (0.5)	4.1 (0.3)	4.4 (0.4)	4.6 (0.3)	4.2 (0.2)	4.4 (0.2)	4.8 (0.2)	4.3 (0.3)	4.7 (0.3)					
<b>Chlore (mmol/L)</b> <small>(98-107 mmol/L)</small>	CTL n=11	103 (2)	102 (1)	103 (1)	104 (2)	103 (2)	105 (2)	104 (1)	103 (2)	104 (1)	0.004	0.580	< 0.001	Condition x time x group <b>P = 0.016</b> Condition x temps < 0.001 P > 0.545	
	PTD n=8	103 (2)	102 (2)	103 (2)	104 (2)	104 (2)	106 (2)	104 (1)	104 (1)	104 (1)					
<b>Reserve alcaline (mmol/L)</b> <small>(20-28 mmol/L)</small>	CTL n=11	30 (2)	17 (4)	31 (2)	30 (2)	17 (3)	29 (2)	30 (2)	17 (3)	30 (1)	0.518	0.668	< 0.001	P > 0.202	
	PTD n=9	30 (3)	18 (4)	29 (3)	29 (3)	18 (3)	28 (3)	29 (4)	18 (3)	28 (2)					

Les valeurs sont présentées en moyenne ± SD

#### 4. Caractérisation de la fonction microvasculaire

##### a) Résultat au repos

Les tracés (*figure 42 et 43*) représentant la variation du flux sanguin cutané au cours du temps caractérisé par les valeurs de perfusion (PU). La *figure 42* comporte les données au repos et la *figure 43* immédiatement post-exercice et post-prandial, on distingue la réponse biphasique (pic et plateau) au chauffage local. Ces tracés ont été obtenus à partir de la moyenne des valeurs de perfusion pour chaque point de temps donné, d'un côté il y a les valeurs moyennées de chaque PTDs à 21 °C de l'autre celles des CTLs à 21 °C ainsi que pour les valeurs de repos à 31 °C. Le même procédé a été entrepris pour les valeurs de perfusion obtenues immédiatement post-exercice et durant la récupération.



**Figure 42** Variation de la perfusion entre les PTDs (en bleu) et les CTLs (noir et gris) dans les conditions environnementales à 31 °C (noir et bleu foncé) vs 21 °C (gris et bleu clair). On distingue sur le schéma les trois phases : flux basal avant stimulation et le pic et le plateau en réponse au chauffage local 42 °C.

L'analyse statistique a été conduite à partir des valeurs moyennes sur les périodes de référence. Au repos, la perfusion cutanée n'était pas différente entre les deux groupes, indépendamment du protocole de chauffage local et des conditions environnementales ( $P = 0.452$ ). Un effet simple de la phase (ligne de base, pic et plateau) a été observé, caractérisant la réactivité à la chaleur locale ( $P < 0.001$ ) et les valeurs de perfusion étaient plus élevées à 31 °C qu'à 21 °C pour l'ensemble des participants. L'effet d'interaction phase x condition était significative ( $P = 0.030$ ), avec des variations marquées entre la ligne de base, le pic et le plateau à 21 °C. Ces variations étaient indépendantes du groupe ( $P = 0.001$ ). Aucune autre interaction significative impliquant le statut hémoglobinémiq ue n'a été identifiée (toutes  $P > 0.780$ ). Un profil similaire est rapporté après normalisation de la pression artérielle (résultats de la CVC fournis dans le tableau ci-dessous).

**Tableau 20** Comparaison de la perfusion et l'hyperhémie (pic et plateau) entre les PTDs et les CTLs à 21 °C versus 31 °C

		21°C			31°C			Valeurs P		
		Base	Pic	Plateau	Base	Pic	Plateau	Condition	Phases	Groupe
<b>Perfusion (PU)</b>	PTDs n=9	146.9 (181.4)	331.9 (151.6)	197.7 (134.1)	274.3 (109.9)	419.3 (124.0)	320.1 (140.4)	<b>0.001</b>	<b>&lt; 0.001</b>	0.452
	CTLs n=11	119.6 (99.5)	319.6 (118.5)	167.3 (104.6)	240.6 (99.7)	371.8 (102.0)	268.9 (113.2)			
<b>Velocity (VU)</b>	PTDs n=9	201.0 (198.2)	411.2 (185.2)	214.0 (111.9)	396.9 (117.6)	555.4 (118.0)	396.8 (150.7)	<b>&lt; 0.001</b>	<b>&lt; 0.001</b>	0.565
	CTLs n=11	202.7 (85.4)	381.7 (112.1)	215.3 (97.6)	357.7 (143.4)	499.4 (164.0)	329.2 (175.5)			
<b>CMBC (CU)</b>	PTDs n=9	35.3 (20.9)	177.0 (94.7)	89.3 (14.5)	75.7 (18.1)	213.2 (136.3)	90.6 (38.1)	0.574	<b>&lt; 0.001</b>	0.058
	CTLs n=11	57.3 (21.8)	294.1 (99.8)	92.9 (23.1)	64.62 (17.2)	179.2 (87.8)	76.0 (19.4)			
<b>CVC (mV/mmHg)</b>	PTDs n=9	1.56 (1.92)	3.59 (1.54)	2.15 (1.42)	3.09 (1.39)	4.68 (1.55)	3.59 (1.73)	<b>0.001</b>	<b>&lt; 0.001</b>	0.538
	CTLs n=11	1.30 (1.07)	3.48 (1.25)	1.81 (1.11)	2.81 (1.31)	4.26 (1.21)	3.14 (1.73)			

*Les valeurs sont présentées en moyenne ± SD*

### **Flowmotion et vasomotion**

Pour rappel l'analyse du flux sanguin cutané via LDF offre la possibilité du traitement d'analyse fréquentielle ou spectrale des signaux obtenus, permettant ainsi de mieux cerner l'origine des fluctuations spontanées du flux sanguin.

Dans le tableau ci-dessous les variations du flowmotion et du vasomotion durant les sessions de repos entre les PTDs et les CTLs en environnement chaud (31 °C) vs environnement neutre (21 °C), sont présentées. Nous n'avons pas observé de différence significative durant l'enregistrement du flux sanguin cutané sans stimulation thermique sur les valeurs de flowmotion et vasomotion incluant le groupe ou l'environnement (tous les  $P > 0.072$ ). A l'issue du protocole de chauffage local nous avons observé une amplitude des fréquences non endothélium dépendante plus élevées durant la session à 31 °C comparé à l'environnement neutre pour l'ensemble des participants ( $P = 0.020$ ).

**Tableau 21** Variation du flowmotion & vasomotion des mesures de repos

Fréquences	Groupe	21 °C		31°C		21°C		31 °C		Valeurs P
		Base	Base	P	LTH	LTH	LTH	LTH		
(NO- indépendantes) 0.005-0095 Hz	CTLs =11	257.2 (278.6)	163.3(104.4)	P > 0.077 (Condition)	148.3 (121.9)	305.1 (254.5)	P > 0.020 (Condition)	P > 0.020 (Condition)	P > 0.020 (Condition)	
	PTDs = 8	472.1 (608.0)	155.5 (140.9)		226.5 (238.1)	394.0 (613.7)				
Endothéliales (NO- dépendantes) 0.0095 – 0.021 Hz	CTLs =11	322.0 (621.1)	183.4 (163.1)	P > 0.121 (Condition)	161.3 (147.0)	354.5 (424.5)	P > 0.213 (Condition)	P > 0.213 (Condition)	P > 0.213 (Condition)	
	PTDs = 8	528.2 (946.8)	68.9 (49.2)		264.2 (267.9)	293.7 (259.7)				
Neurogéniques 0.02 – 0.06 Hz	CTLs =11	306.1 (392.6)	246.5 (267.5)	P > 0.072 (Condition)	181.8 (128.6)	197.8 (138.2)	P > 0.460 (Groupe)	P > 0.460 (Groupe)	P > 0.460 (Groupe)	
	PTDs = 8	413.2 (598.)	87.5 (66.0)		321.2 (411.5)	252.9 (255.3)				
Myogéniques 0.06 – 0.2 Hz	CTLs =11	122.9 (134.4)	176.3 (217.7)	P > 0.309 (Condition)	161.6 (110.7)	177.9 (148.2)	P > 0.125 (Condition x groupe)	P > 0.125 (Condition x groupe)	P > 0.125 (Condition x groupe)	
	PTDs = 8	168.0 (279.3)	93.5 (80.7)		224.3 (257.7)	106.4 (90.6)				
Respiratoires 0.145– 0.6 Hz	CTLs =11	73.9 (154.7)	21.0 (28.9)	P > 0.217 (Condition)	75.8 (80.6)	34.8 (38.5)	P > 0.059 (Condition)	P > 0.059 (Condition)	P > 0.059 (Condition)	
	PTDs = 8	20.2 (28.3)	11.7 (7.4)		46.3 (53.2)	32.0 (23.8)				
Cardiaques 0.6–2.3 Hz	CTLs =11	66.5 (92.7)	34.0 (37.5)	P > 0.169 (Condition)	124.1 (83.7)	64.6 (42.0)	P > 0.187 (Condition)	P > 0.187 (Condition)	P > 0.187 (Condition)	
	PTDs = 8	25.2 (33.1)	45.5 (51.8)		94.4 (68.0)	82.6(91.4)				

Les valeurs sont présentées en moyenne  $\pm$  SD



## *b) Résultat en post-exercice*

### *(5) Perfusion (tableau 22)*

#### ***Perfusion (sans stimulation thermique)***

La perfusion n'était pas significativement différente entre les groupes en réponse à l'exercice (effet de groupe simple  $P = 0.365$ ). Les valeurs de perfusion étaient plus élevées dans la condition 31 °C comparativement à la condition 21 °C, (effet simple de la condition  $P < 0.001$ ), elles étaient également plus élevées immédiatement post-exercice (T50) comparativement aux valeurs durant la récupération tardive (T180) (effet simple du temps  $P < 0.001$ ). Les interactions suivantes étaient significatives : groupe x condition et temps x condition ( $P = 0.012$  ;  $P < 0.001$ , respectivement).

Les analyses appariées ont révélé que les valeurs de perfusion étaient plus élevées lorsque la récupération était réalisée en environnement chaud (31 °C) comparativement à l'environnement neutre. Nous avons également constaté que les PTDs et les CTLs présentaient des profils de variations de perfusion différents. La perfusion était plus basse lors de la récupération (T180) comparativement au post-exercice (T50) lorsque la récupération était réalisée à 21 °C chez les PTDs.

Pour les CTLs les valeurs de perfusion étaient significativement plus basses à T180 comparativement à T50 uniquement lorsque la récupération était réalisée à 21 °C après l'exercice à 31 °C.

#### ***Hyperhémie thermique (réactivité microvasculaire au chauffage local)***

Les valeurs de perfusion obtenues à l'issue du protocole de chauffage local n'était pas significativement différentes entre les groupes ( $P = 0.195$ ). Aucun effet simple n'a été observé (temps, conditions), ni même d'effet d'interaction incluant le statut hémoglobinémiq (l'ensemble des  $P > 0.078$ ).

La réponse hyperémique exprimée en pourcentage de la perfusion de base, a révélé que le pic était plus élevé en environnement chaud qu'en environnement neutre ( $P < 0.001$ ) et les effets d'interactions groupe x condition et temps x condition étaient significatifs ( $P = 0.043$  ;  $P < 0.001$ , respectivement). Les analyses appariées ont révélé que le pic (%) était plus élevé lors de la récupération à 31 °C qu'à 21 °C (ECRC vs. ENRN, ECRC vs. ECRN) pour tous les participants à T180.

Ce n'est que dans le groupe PTD que la perfusion a diminué pendant la récupération à 21 °C (T50 vs T180, ENRN et ECRN).

(6) Les déterminants de la perfusion (tableau 23)***Velocity et CMBC (sans stimulation thermique locale)***

La vitesse d'écoulement (velocity) et la concentration en cellules circulantes (CMBC) n'étaient pas significativement différente entre les groupes en réponse à l'exercice (effet de groupe simple  $P = 0.081$ ,  $P = 0.097$ , respectivement), la vitesse avait tendance à être plus élevée chez les PTDs comparés aux CTLs. Les valeurs (velocity et CMBC) étaient plus élevées dans la condition 31 °C comparativement à la condition 21 °C, (effet simple de la condition  $P < 0.001$ ,  $P < 0.001$ , respectivement). La vitesse était plus élevée immédiatement post-exercice (T50) comparativement aux valeurs durant la récupération tardive (T180) (effet simple du temps  $P < 0.001$ ). L'interaction suivante était significative uniquement pour la vitesse : condition et temps ( $P < 0.001$ ), avec des valeurs plus faibles à T180 qu'à T50 en ECRN et ENRN.

***Velocity et CMBC durant LHT***

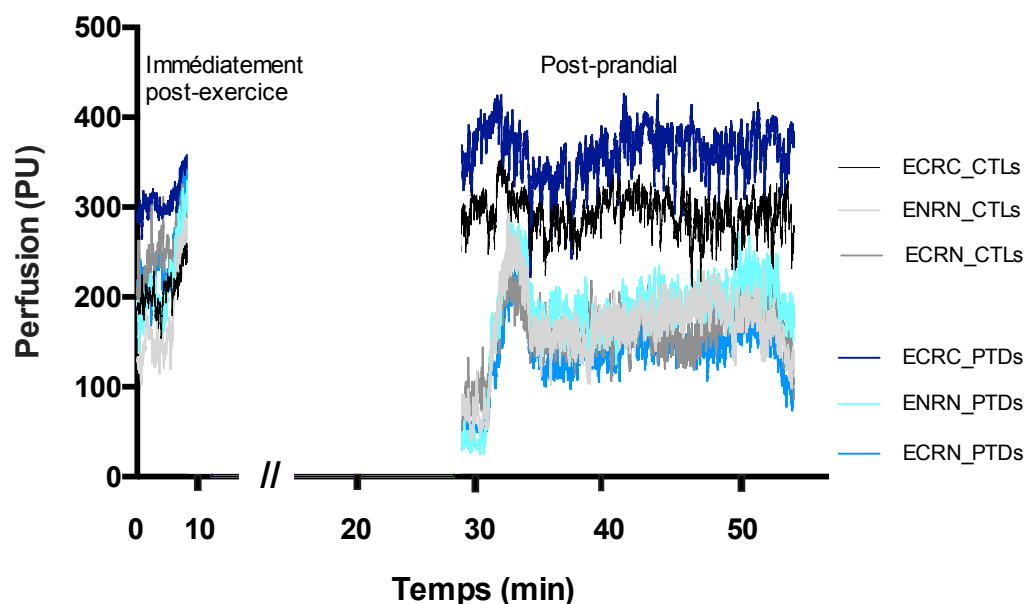
**Pic :** Il n'y avait pas de différences entre les groupes concernant les valeurs de velocity et de CMBC, ( $P = 0.491$  ;  $P = 0.966$ , respectivement). La vitesse et la CMBC étaient plus faibles à T180 comparée à T50 pour tous, avec des valeurs plus élevées à ECRC comparée aux autres sessions (ECRN, ENRN) (tous les  $P < 0.001$ ). Les effets d'interactions suivant étaient significatifs : condition x temps ( $P < 0.001$ ) ; condition x temps x groupe ( $P = 0.049$ ).

Les analyses appariées ont révélé que le pic était plus élevé lors de la récupération à 31 °C qu'à 21 °C (ECRC vs. ENRN, ECRC vs. ECRN) pour les PTDs à T180.

Dans le groupe CTLs le pic a diminué significativement à T180 comparé à T50 en ECRN, et le pic était plus élevé en ECRN comparé à ENRN à T50 et en ECRC comparé à ECRN à T180.

**Plateau :** La CMBC était plus faible chez les PTDs comparé aux CTLs et la vitesse d'écoulement de ces cellules avait tendance à être plus élevée chez les PTDs comparée aux CTLs ( $P = 0.007$  ;  $P = 0.062$ , respectivement). La vitesse était plus élevée dans la condition ECRC comparativement aux autres conditions ( $P < 0.001$ ). L'effet d'interaction groupe x condition était significatif ( $P < 0.024$ ). Les post-hocs ont révélé que la vitesse d'écoulement était plus élevée en environnement chaud (ECRC) comparativement aux autres conditions pour

tous les groupes. Les PTDs avaient une vitesse d'écoulement plus élevée que les CTLs ( $P = 0.011$ ).



**Figure 43** Variations du flux sanguin cutané entre les PTDs (lignes grises) et les CTLs (lignes noires) immédiatement post-exercice (T50) et durant la récupération (T180), dans les conditions environnementales suivantes : ENRN (lignes continues), en ECRC (lignes discontinues) et en ECRN (lignes en pointillées). Les valeurs sont présentées en moyenne  $\pm$  SD.

#### Résultats du flowmotion & vasomotion (tableau 24)

Nos résultats n'ont pas mis en évidence de différences significatives entre les PTDs et les CTLs avec ou sans stimulation thermique ( $P > 0.196$ ). Pour l'ensemble des participants nous avons observé une différence significative au moment de la récupération avec des valeurs plus basses comparé à immédiatement post-exercice sur les bandes fréquentielles non endothéliales, endothéliale, neurogénique et myogénique ( $P = 0.014$ ,  $P = 0.020$ ,  $P = 0.017$ ,  $P = 0.032$ , respectivement) indépendamment des conditions environnementales.

Les effets d'interactions (temps x condition) ont montré que pour les bandes fréquentielles non endothéliale et neurogénique étaient plus élevées à T180 qu'à T50 en ECRC comparativement aux autres conditions environnementales.

**Tableau 22** Perfusion cutanée et hyperhémie (pic, plateau) chez les PTDs vs CTLs dans les différentes conditions environnementales

Paramètres	Groupe	ENRN		ECRC		ECRN		Effets simples			Effets d'interactions
		T50	T180	T50	T180	T50	T180	Condition	Temps	Groupe	< 0.05
Perfusion (AU)	CTLs n=11	161.2 (94.7)	69.6 (81.9)	210.7 (81.9)	283.8 (80.3)	249.6 (100.5)	81.5 (75.2)	< 0.001	< 0.001	0.365	Condition x groupe 0.012
	PTDs n=9	208.6 (84.9)	35.5 (21.2)	310.8 (76.8)	352.0 (127.7)	198.1 (98.4)	56.5 (78.3)				Condition x temps < 0.001
Perfusion CVC (mV/mmHg)	CTLs n=11	1.85 (1.10)	0.79 (1.02)	2.45 (0.90)	3.25 (0.90)	2.96 (1.25)	0.96 (0.89)	< 0.001	< 0.001	0.314	Condition x groupe 0.002
	PTDs n=9	2.33 (0.94)	0.40 (0.24)	3.77 (0.94)	4.28 (1.62)	2.21 (1.09)	0.67 (0.98)				Condition x temps < 0.001
Pic (AU)	CTLs n=11	340.8 (77.1)	324.2 (139.1)	313.6 (71.8)	378.3 (102.1)	381.7 (101.5)	284.6 (108.0)	0.078	0.115	0.195	
	PTDs n=9	373.2 (75.3)	325.9 (136.8)	380.4 (85.8)	456.0 (135.3)	382.9 (89.2)	308.4 (58.0)				
Pic % du baseline	CTLs n=11	459.3 (633.9)	886.5 (505.0)	170.2 (73.1)	112.1 (20.7)	182.4 (121.3)	593.3 (386.6)	< 0.001	< 0.001	0.214	Condition x groupe 0.043
	PTDs n=9	225.0 (170.1)	1109.4(552.3)	123.0 (10.0)	107.1 (24.9)	378.0 (526.9)	1227.6(813.6)				Temps x groupe : 0.037
Pic CVC (mV/mmHg)	CTLs n=11	3.94 (0.94)	3.60 (1.35)	3.66 (1.02)	4.33 (1.22)	2.14 (1.34)	3.39 (1.39)	0.070	0.609	0.051	Condition x temps < 0.001
	PTDs n=9	4.17 (0.90)	3.66 (1.55)	4.60 (1.07)	5.57 (1.71)	4.37 (6.38)	3.58 (0.91)				
Plateau (AU)	CTLs n=11	-	60.4 (48.3)	-	304.8 (80.1)	-	80.9 (93.1)	< 0.001	-	0.976	

	PTDs n=9	-	43.1 (28.1)	-	326.3 (103.1)	-	52.5 (66.1)		
<b>Plateau %</b>	CTLs n=11		113.0 (61.9)		108.7 (12.2)		114.8 (81.3)	0.695	- 0.937
	PTDs n=9		125.2 (52.7)		100.6 (8.1)		107.4 (58.6)		
<b>Plateau CVC (mV/mmHg)</b>	CTLs n=11	-	0.68 (0.57)	-	3.50 (0.90)	-	0.97 (1.10)	< 0.001	- 0.773
	PTDs n=9	-	0.48 (0.32)	-	4.28 (1.58)	-	0.63 (0.83)		

*Les valeurs sont présentées en moyenne ± SD*

**Tableau 23** Déterminants de la perfusion : CMBC et velocity chez les PTDs et les CTLs

Paramètres	Groupe	ENRN		ECRC		ECRN		Effets simples			Effets d'interactions
		T50	T180	T50	T180	T50	T180	Condition n	Temps	Groupe	< 0.05
<b>Velocity sans LHT (VU)</b>	CTLs n=11	255.7 (93.7)	109.1 (81.2)	334.1 (127.5)	330.8 (87.9)	366.1 (133.2)	126.8 (82.5)	< 0.001	< 0.001	0.081	Condition x temps < 0.001
	PTDs n=9	311.3 (94.5)	85.3 (24.7)	422.6 (102.6)	407.4 (129.2)	318.2 (100.5)	113.9 (94.9)				
<b>Velocity pic LHT (VU)</b>	CTLs n=11	409.7 (100.3)	372.7 (109.9)	491.1 (100.3)	484.3 (157.4)	584.7 (110.9) <sup>†§</sup>	320.9 (106.0)*	< 0.001	< 0.001	0.491	Condition x temps < 0.001 Condition x temps x groupe P = 0.049
	PTDs n=9	504.0 (109.6)	354.4 (117.4)*	528.0 (111.3)	566.1 (134.0)	493.0 (83.5)	343.8 (117.1)*				
<b>Velocity plateau LHT (VU)</b>	CTLs n=11	-	181.8 (61.2)	-	280.2 (61.5)	-	174.8 (84.5)	< 0.001	-	0.062	Condition x groupe 0.024
	PTDs n=9	-	188.7 (76.4)	-	415.0 (115.3)	-	186.0 (104.1)				
<b>CMBC sans LHT (CU)</b>	CTLs n=11	60.2 (17.4)	66.6 (38.8)	68.8 (16.0)	101.5 (30.9)	77.3 (22.0)	63.0 (36.1)	< 0.001	0.967	0.167	Groupe x temps 0.097 (NS)
	PTDs n=9	62.7 (14.0)	47.7 (18.9)	73.4 (8.8)	93.4 (29.8)	72.4 (21.3)	41.4 (21.0)				
<b>CMBC pic LHT (CU)</b>	CTLs n=11	409.7 (110.9)	308.6 (132.1)	491.1 (157.4)	110.8 (35.2)	584.7 (110.9)	321.3 (118.2)	< 0.001	< 0.001	0.966	
	PTDs n=9	503.0 (109.6)	292.8 (90.6)	528.0 (111.3)	92.8 (19.5)	493.0 (83.5)	309.6 (100.5)				
<b>CMBC plateau LHT (CU)</b>	CTLs n=11	-	102.8 (28.7)	-	110.8 (35.2)	-	115.3 (50.0)	0.351	-	0.007	
	PTDs n=9	-	110.0 (32.6)	-	92.8 (19.5)	-	96.8 (31.4)				

*CMBC sans LHT : concentration of moving of blood cell sans stimulation thermique, LHT : local hyperthermia. \* vs. ECRC T180 ; § vs ENRN T50 ; † vs ECRN T180*

**Tableau 24** Flowmotion & vasomotion

Fréquences	Groupe	ENRN		ECRC		ECRN		Valeurs P	ENRN	ECRC	ECN	Valeurs P
		PU T50	PU T180	PU T50	PU T180	PU T50	PU T180		LHT	LHT	LHT	
Non Endothéliales	<i>CTLs = 10</i>	354.20 (268.02)	59.37 (74.97)	322.54 (544.61)	103.78 (102.80)	355.73 (423.65)	148.72 (179.50)	Temps <b>0.014</b> Temps x condition <b>0.046</b>	294.08 (431.87)	883.54 (1283.31)	125.30 (145.43)	P > 0.060 (condition)
	<i>PTDs = 8</i>	609.78 (563.20)	38.65 (38.25)	268.94 (312.69)	495.82 (690.08)	740.59 (930.91)	93.46 (118.36)		200.60 (265.31)	716.92 (1377.53)	218.08 (282.97)	
Endothéliale 0.009 – 0.02 Hz	<i>CTLs = 10</i>	649.92 (631.36)	163.43 (282.99)	203.70 (199.57)	147.96 (177.45)	434.58 (691.18)	192.65 (187.80)	Temps <b>0.020</b>	268.65 (281.62)	708.11 (649.77)	170.77 (141.35)	Condition P = <b>0.019</b>
	<i>PTDs = 8</i>	496.25 (85.60)	42.00 (41.07)	256.40 (371.43)	164.40 (111.88)	490.60 (560.31)	97.92 (152.58)		104.64 (111.09)	793.86 (1361.02)	224.32 (249.20)	
Sympathiques 0.02 – 0.06 Hz	<i>CTLs = 10</i>	595.97 (664.27)	135.22 (234.21)	176.51 (170.75)	239.77 (314.43)	295.31 (261.21)	175.41 (136.82)	Temps <b>0.017</b> Temps x condition <b>0.010</b>	377.16 (450.57)	516.26 (576.49)	206.70 (151.63)	Condition P = <b>0.043</b> P > 554
	<i>PTDs = 8</i>	446.41 (522.96)	61.14 (71.34)	123.16 (184.30)	178.47 (214.01)	489.96 (578.11)	109.52 (195.75)		353.71 (667.71)	823.33 (1095.15)	217.28 (194.85)	
Myogéniques 0.06 – 0.2 Hz	<i>CTLs = 10</i>	174.0852 (188.51)	94.932 (111.40)	143.65 (191.41)	214.96 (433.58)	156.62 (186.88)	130.47 (146.68)	Temps <b>0.032</b> Autres P > 0.059	258.32 (336.69)	359.72 (245.81)	279.17 (317.74)	P > 0.105 (condition)
	<i>PTDs = 8</i>	193,66 (180.92)	39,06 (45.17)	111,56 (162.86)	146,95 (178.43)	331,41 (350.41)	43,69 (66.77)		210.76 (346.77)	480.98 (699.38)	144.21 (85.12)	
Respiratoires 0.2–0.6Hz	<i>CTLs = 10</i>	36.58 (40.52)	39.62 (57.38)	30.24 (53.11)	118.53 (276.87)	66.46 (120.63)	67.44 (120.63)	P > 0.059 (Temps x condition)	61.49 (81.73)	143,69 (271.20)	104.94 (147.93)	P > 0.197 (Groupe)

	<i>PTDs = 8</i>	16.38 (13.61)	14.30 (19.45)	8.67 (5.12)	33.00 (39.36)	48.33 (87.65)	6.98 (11.10)		45.68 (43.30)	58,52 (68.76)	45.12 (50.52)	
Cardiaques 0.6–2.3Hz	<i>CTLs =10</i>	23.31 (25.91)	23.64 (27.78)	15.88 (18.62)	50.51 (98.34)	81.69 (190.21)	57.54 (90.03)	P > 0.088 (Condition )	101.38 (100.80)	94.50 (122.18)	92.28 (82.92)	P > 0.060 (Condition)
	<i>PTDs = 8</i>	13.97 (15.54)	19.28 (23.48)	10.39 (7.49)	22.24 (20.43)	38.08 (75.31)	8.21 (8.07)		95.60 (171.97)	65.68 (104.66)	65.34 (51.97)	

*PU : perfusion enregistrée sans stimulation thermique, LTH : perfusion durant chauffage local. Les valeurs sont présentées en moyenne ± SD*



## 5. Déterminants de la fonction microvasculaire

### *a) Caractéristiques hématologiques*

Concernant les paramètres hématologiques (les tableaux ci-dessous 25-26), nous avons observé des différences significatives sur les taux leucocytes, en particulier le nombre de neutrophiles, ainsi que pour le VGM et le CCMH, les PTDs présentant des valeurs inférieures à celles des CTLs ( $P = 0,043$  ;  $P = 0,042$  ;  $P = 0,006$  ;  $P = 0,032$ , respectivement).

Les interactions significatives groupe x temps et groupe x condition révèlent que l'augmentation normale post-exercice observée dans le groupe CTL ne se produit pas ou dans une moindre mesure pour les PTDs ( $P = 0.032$  ;  $P = 0.025$  ;  $< 0.001$ ,  $P = 0.006$  pour les leucocytes, neutrophiles, VGM et CCMH respectivement).

Le nombre de leucocytes était plus élevé pour tous les groupes à T180 par rapport à T0 indépendamment des conditions environnementales ( $P = 0.008$ ) et en particulier le nombre de neutrophiles ( $P < 0.001$ ) tandis que le nombre de lymphocytes, de basophiles et d'éosinophiles, l'hémoglobine, les érythrocytes, VGM et CCMH étaient diminués à T180 comparativement au pré-exercice pour les deux groupes (tous  $P < 0.001$ ). L'hémoglobine et les érythrocytes ont été affectés par les conditions pour les deux groupes ( $P = 0.004$  ;  $P = 0.025$ , respectivement).

Les analyses post-hocs ont révélé deux profils distincts entre les PTDs et les CTL, avec des taux d'érythrocytes, d'hémoglobine et un VGM affectés par les conditions environnementales durant la récupération.

#### *Le profil hématologique des PTDs*

Chez les PTDs les érythrocytes étaient plus élevés durant la récupération (T180) dans la condition ENRN comparativement aux autres ECRC et ECRN (tous les  $P = 0.001$ ). Le taux d'hémoglobine et le VGM étaient plus faibles dans la condition l'ECRC comparativement à la condition ECRN à T180 ( $P = 0.003$  ;  $P = 0.045$ , respectivement). Nous avons observé que les taux d'érythrocytes, d'hémoglobine et le VGM étaient significativement plus faibles à T180 comparativement à T0 dans la condition ECRC ( $P = 0.001$  ;  $P = 0.001$  ;  $P = 0.009$ ).

Le taux de neutrophiles et de leucocytes était également plus élevé durant la récupération T180 dans la condition ECRN comparativement à la condition ECRC. Le taux de neutrophiles était élevé dans la condition ECRN au moment de la récupération comparativement au pré-exercice.

Le profil hématologique des CTLs

Nous avons observé un VGM plus faible à T180 dans la condition ECRC comparativement aux autres condition ENRN et ECRN (tous les  $P < 0.001$ ), avec des valeurs plus faibles à T180 comparativement à T0 dans la même condition. Les leucocytes étaient élevés à T180 comparativement à T0 dans les conditions ECRN et ENRN (tous  $P < 0.001$ ). Les neutrophiles étaient plus élevés à T180 par rapport à T0 pour toutes les sessions (tous  $P < 0.001$ ).

**Tableau 25** Comparaison des profils (PTDs et CTLs) hématologiques en pre et post-exercice dans les différentes conditions environnementales

Biomarqueurs (LR)		ENRN		ECRC		ECRN		Valeurs de P	
		T0	T180	T0	T180	T0	T180	Significatifs	Autres
<b>Hémoglobine (g/dL)</b> (14-18 g/dL)	CLT n=11	15.1 (1.1)	14.9 (0.9)	14.7 (0.8)	14.3 (1.1)	15.1 (1.1)	14.8 (1.0)	Condition 0.004 Temps < 0.001 <u>Temps x groupe 0.038</u>	Condition x temps : 0.052  > 0.400
	PTD n=9	15.0 (0.8)	14.5 (0.9)	14.9 (0.6)	13.8 (0.9) <sup>s†</sup>	15.1 (0.6)	14.8 (0.8)		
<b>Erythrocytes (T/L)</b> (4.5-5.9x10 <sup>6</sup> )	CLT n=11	5.2 (0.4)	5.1 (0.4)	5.1 (0.4)	4.9 (0.5)	5.2 (0.5)	5.1 (0.4)	Condition 0.025 Temps < 0.001 <u>Temps x groupe 0.047</u> Condition x temps 0.010	> 0.230
	PTD n=9	5.4 (0.5)	5.3 (0.5)	5.4 (0.5)	5.0 (0.5) <sup>*\$</sup>	5.5 (0.4)	5.3 (0.4) <sup>*</sup>		
<b>VGM (fL)</b> (80-94 fL)	CLT n=11	90.9 (4.5)	90.8 (4.4)	90.3 (3.9)	89.3 (3.6) <sup>*\$†</sup>	90.6 (4.8)	90.8 (5.3)	<u>Groupe 0.006</u> Temps 0.009 Groupe x temps : < 0.001	> 0.133
	PTD n=9	85.2 (3.1)	85.1 (3.7)	85.2 (3.0)	84.3 (2.9) <sup>s†</sup>	85.0 (3.6)	85.1 (3.4)		
<b>CCMH (pg)</b> (34-35 g/dL)	CLT n=11	29.3 (1.3)	29.2 (1.3)	29.1 (1.6)	29.2 (1.5)	29.2 (1.6)	29.4 (1.8)	<u>Groupe 0.032</u> Group x temps 0.006	> 0.264
	PTD n=9	27.9 (1.4)	27.4 (1.3)	27.8 (1.6)	27.8 (1.5)	27.6 (1.3)	27.9 (1.5)		
<b>Plaquettes (10<sup>9</sup>/L)</b> (150-450 x 10 <sup>3</sup> )	CLT n=11	252 (48)	249 (42)	244 (59)	249 (42)	251 (32)	248 (40)	Temps 0.061 Temps x groupe 0.070 > 0.325	
	PTD n=9	244 (28)	235 (28)	255 (44)	229 (50)	248 (34)	238 (33)		

\* vs. ENRN T180 ; \$ vs T0 ; † vs ECRN T180, RF : limites de références, les valeurs sont présentées en moyenne ± SD

**Tableau 26** Comparaison de la numération leucocytaire entre les PTDs et les CTLs en pre et post-exercice dans les différentes conditions environnementales

Biomarqueurs (LR)		ENRN		ECRC		ECRN		Valeurs de P	
		T0	T180	T0	T180	T0	T180	P < 0.05	P > 0.05
<b>Leucocytes (G/L)</b> (7-13.4 G/L)	CTL n=11	6.5 (1.5)	8.4 (2.6) <sup>\$</sup>	6.8 (1.6)	8.0 (2.3)	5.9 (2)	8.5 (3.2) <sup>\$</sup>	<u>Groupe 0.043</u> Temps 0.008 Condition x temps 0.032 Condition x groupe 0.042	> 0.134
	PTD n=9	5.5 (1.5)	6.4 (1.8)	5.1 (1.3)	5.4 (1.3) <sup>†</sup>	6.0 (1.4)	7.0 (1.7)		
<b>Neutrophiles (G/L)</b> (2.6-7.5 G/L)	CTL n=11	3.1 (0.7)	6.4 (2.5) <sup>\$</sup>	3.6 (1.3)	6.0 (1.9) <sup>\$</sup>	2.8 (1.2)	6.6 (3) <sup>\$</sup>	<u>Groupe 0.042</u> Temps < 0.001 Temps x condition 0.025 Condition x groupe 0.020	Condition 0.054 > 0.094
	PTD n=9	2.8 (0.9)	4.5 (2.0)	2.3 (0.8)	3.4 (1.4) <sup>†</sup>	3.2 (1)	5.1 (1.9) <sup>\$</sup>		
<b>Eosinophiles (G/L)</b> (0.050-0.360 GL)	CTL n=11	0.29 (0.17)	0.14 (0.12)	0.30 (0.14)	0.14 (0.10)	0.24 (0.11)	0.10 (0.06)	Temps < 0.001	> 0.102
	PTD n=9	0.23 (0.07)	0.14 (0.06)	0.22 (0.05)	0.13 (0.05)	0.25 (0.08)	0.15 (0.06)		
<b>Lymphocytes (G/L)</b> (2.3-5.4 G/L)	CTL n=11	2.7 (1.0)	1.4 (0.4)	2.5 (1)	1.4 (0.3)	2.5 (1)	1.4 (0.5)	Temps < 0.001	Temps x groupe 0.095 > 0.255
	PTD n=9	2.1 (0.9)	1.3 (0.4)	2.2 (0.7)	1.5 (0.4)	2.1(0.8)	1.3 (0.4)		
<b>Monocytes (G/L)</b> (0.3-1.1 G/L)	CTL n=11	0.39 (0.08)	0.42 (0.07)	0.40 (0.12)	0.45 (0.15)	0.38 (0.11)	0.42 (0.13)	> 0.135	
	PTD n=9	0.38 (0.11)	0.39 (0.9)	0.35 (0.15)	0.35 (0.13)	0.41 (0.11)	0.40 (0.09)		
<b>Basophiles (G/L)</b> (0.010-0.060 G/L)	CTL n=11	0.04 (0.03)	0.03 (0.02)	0.04 (0.01)	0.03 (0.01)	0.03 (0.01)	0.03 (0.02)	Temps < 0.001 Condition x groupe 0.038	> 0.346
	PTD n=9	0.03 (0.01)	0.03 (0.01)	0.04 (0.01)	0.03 (0.01)	0.04 (0.01)	0.03 (0.01)		

\* vs. ENRN T180 ; \$ vs T0 ; † vs ECRN T180, les valeurs sont présentées en moyenne ± SD

### *b) Paramètres hémorhéologiques*

Les résultats des comparaisons sont présentés dans les tableaux ci-dessous 27-28, avec une première analyse réalisée T0 vs T50 et les résultats obtenus à T180. Le statut hémoglobinémiq ue n'a pas affecté le taux d'hématocrite, la déformabilité (EI 0,30, 30) ni la viscosité du sang aux vitesses de cisaillements suivantes : 45 et 225 s<sup>-1</sup> (tableau 19-20) (tous les P > 0.054). En revanche, la viscosité sanguine à 11.25 s<sup>-1</sup> était plus élevée pour le groupe PTDs que pour le groupe CTLs immédiatement post-exercice (P = 0.035). Les PTDs présentaient une amplitude d'agrégation supérieure aux CTLs immédiatement post-exercice (P = 0.001), qui persistait durant la récupération (T180) (P = 0.015) alors que les autres indices d'agrégation n'étaient pas différents entre les PTDs et les CTLs. Au cours de la récupération, la viscosité du sang à 22.5 et 90 s<sup>-1</sup> était plus élevée pour le groupe PTD (P = 0.031 ; P = 0.050, respectivement). Pour tous les participants l'hématocrite et la viscosité du sang ont augmenté de manière significative immédiatement en post-exercice (T50) par rapport au pre-exercice (T0) (tous les P < 0.023), et la déformabilité des GR à 0.30 Pa a diminué (P = 0.030). Les conditions environnementales ont affecté pour tous les groupes l'indice d'agrégation, avec des valeurs plus élevées en ENRN (P = 0.003). L'hématocrite et la viscosité du sang à 11.25, 22.5, 90 et 225 s<sup>-1</sup> était plus faible à T180 en ECRC par rapport aux autres conditions pour tous les participants (tous P < 0.050).

**Tableau 27** Comparaison des paramètres hémorhéologiques entre les PTDs et les CTLs en pré-exercice (T0) immédiatement post-exercice (T50) et durant la récupération (T180) dans les différentes conditions environnementales

		ENRN		ECRC		ECRN		P		ENRN	ECRC	ECRN	P	
		T0	T50	T0	T50	T0	T50	P < 0.05	P > 0.05	T180	T180	T180	P < 0.05	P > 0.05
<b>Hématocrite (%)</b>	CTL n=11	47.5 (2.8)	50.8 (2.6)	46.6 (2.8)	49.7 (3.1)	47.0 (3.1)	49.5 (2.5)	Temps < 0.001	> 0.129	46.8 (2.6)	45.4 (2.9)	46.5 (3.0)	Condition <0.001	> 0.125
	PTD n=9	46.7 (2.6)	49.1 (3.2)	46.1 (2.3)	48.1 (2.7)	46.8 (2.4)	48.8 (2.8)			45.6 (2.5)	42.6 (2.8)	46.0 (2.7)		
<b>Viscosité sanguine à 11.25 (mPa.s-1)</b>	CTL n=11	13.6 (2.2)	16.2 (3.7)	12.8 (2.5)	14.0 (2.4)	13.9 (2.5)	13.4 (2.8)	<u>Groupe</u> 0.035 Temps 0.023	> 0.223	13.1 (2.9)	12.3 (1.5)	12.6 (1.5)	<u>Condition</u> 0.029	0.139
	PTD n=9	15.8 (3.7)	17.0 (4.5)	13.9 (2.0)	16.6 (5.5)	15.1 (3.5)	16.5 (4.1)			15.6 (3.7)	12.8 (2.9)	13.7 (2.0)		
<b>Viscosité sanguine à 22.5 (mPa.s-1)</b>	CTL n=11	10.5 (2.0)	12.3 (2.5)	11.1 (2.6)	11.7 (3.0)	10.7 (2.2)	10.7 (1.3)	Temps 0.016	> 0.122	9.0 (1.3)	9.7 (1.3)	9.7 (1.3)	Condition 0.048 <u>Groupe</u> 0.031	> 0.127
	PTD n=9	12.5 (3.3)	13.7 (4.0)	10.8 (1.6)	12.7 (2.4)	11.9 (2.3)	12.5 (2.4)			12.0 (1.7)	10.2 (2.2)	11.4 (1.8)		
<b>Viscosité sanguine à 45 (mPa.s-1)</b>	CTL n=11	9.1 (1.5)	10.3 (2.0)	9.1 (1.8)	9.7 (1.8)	9.2 (1.3)	9.4 (1.1)	Temps 0.009	Groupe 0.054 > 0.168	9.0 (1.3)	8.7 (1.1)	8.7 (0.9)	Groupe 0.088 > 0.172	
	PTD n=9	10.6 (1.9)	11.6 (2.6)	9.3 (1.2)	10.6 (2.0)	10.0 (1.3)	10.9 (1.6)			10.0 (1.4)	9.0 (2.3)	10.1 (2.3)		
<b>Viscosité sanguine à 90 (mPa.s-1)</b>	CTL n=11	7.3 (1.1)	8.3 (1.3)	7.5 (1.0)	8.0 (1.3)	7.8 (1.2)	7.8 (0.9)	Temps 0.004	Groupe 0.073 Condition 0.077 Condition x temps x groupe 0.087	7.2 (1.2)	6.9 (0.6)	7.3 (0.8)	<u>Groupe</u> 0.050 Condition 0.050	0.617
	PTD n=9	8.8 (1.2)	9.2 (1.6)	7.5 (1.1)	8.6 (1.4)	8.1 (1.2)	8.9 (1.2)			8.2 (1.1)	7.6 (1.6)	8.5 (1.9)		
<b>Viscosité sanguine à 225 (mPa.s-1)</b>	CTL n=11	6.3 (0.8)	7.2 (0.9)	6.2 (0.6)	6.9 (0.8)	6.4 (0.7)	6.8 (0.6)	Temps < 0.001	Condition 0.059 > 0.215	6.1 (0.8)	5.8 (0.4)	6.1 (0.6)	Condition 0.008	> 0.129
	PTD n=9	6.8 (0.7)	7.4 (1.0)	6.2 (0.6)	7.0 (1.0)	6.5 (0.7)	7.2 (0.8)			6.6 (0.7)	6.0 (0.9)	6.6 (0.9)		

Les valeurs sont présentées en moyenne ± SD

**Tableau 28** Comparaison des propriétés micro-rhéologiques érythrocytaires entre les PTDs et les CTLs en pré-exercice (T0) immédiatement post-exercice (T50) et durant la récupération (T180) dans les différentes conditions environnementales

		ENRN		ECRC		ECRN		P		ENRN	ECRC	ECRN	P	
		T0	T50	T0	T50	T0	T50	P < 0.05	P > 0.05	T180	T180	T180	P < 0.05	P > 0.05
AI (%)	CTL n=10	60.2 (6.7)	65.3 (6.0)	59.3 (3.5)	65.3 (3.6)	60.1 (4.7)	61.3 (9.6)	Temps 0.003	> 0.155	59.6 (6.4)	55.9 (5.0)	57.5 (6.7)	Condition 0.046	> 0.302
	PTD n=9	62.7 (7.1)	64.0 (7.3)	60.8 (8.6)	62.5 (7.0)	60.1 (8.9)	63.3 (9.8)			56.5 (6.5)	51.9 (8.9)	55.2 (9.8)		
t 1/2 (s)	CTL n=11	2.3 (0.7)	2.1 (0.7)	2.6 (0.6)	2.1 (0.4)	2.5 (0.7)	2.7 (1.8)		> 0.076	2.7 (0.8)	3.1 (0.7)	2.9 (1.5)		> 0.062 (conditions)
	PTD n=9	2.4 (0.7)	2.3 (0.8)	2.6 (1.0)	2.4 (0.8)	2.8 (1.1)	2.5 (1.1)			3.2 (0.9)	3.9 (1.5)	3.4 (1.5)		
AMP (u.a)	CTL n=11	17.8 (2.8)	14.0 (3.1)	18.2 (2.5)	15.0 (2.6)	17.7 (2.4)	14.2 (4.6)	Groupe 0.001 Temps < 0.001	> 0.051 temps x groupe	20.2 (2.8)	20.0 (4.3)	18.3 (5.6)	Groupe 0.015	> 0.097
	PTD n=9	20.4 (1.3)	17.4 (2.0)	20.1 (1.9)	18.4 (1.5)	20.4 (1.6)	18.5 (1.6)			23.4 (2.1)	23.0 (1.6)	21.8 (1.5)		
Tf (s)	CTL n=11	2.1 (0.7)	2.1 (1.1)	2.4 (0.7)	1.9 (0.4)	2.2 (0.6)	2.3 (0.9)		> 0.199	2.5 (0.7)	2.8 (0.7)	2.6 (0.9)		> 0.114
	PTD n=9	2.2 (0.6)	2.3 (0.8)	2.5 (1.0)	2.0 (0.8)	2.6 (1.1)	2.3 (0.9)			3.0 (0.9)	3.4 (1.5)	3.0 (1.2)		
Ts (s)	CTL n=11	15.6 (4.6)	14.0 (6.1)	19.9 (7.0)	14.8 (4.5)	16.4 (3.9)	24.1 (18.7)	Condition x temps x groupe 0.037	> 0.086					
	PTD n=8	17.2 (4.0)	21.1 (11.1)	22.2 (6.3)	26.1 (19.2)	21.1 (6.4)	15.7 (7.3)							
Y at dISC min (1/S)	CTL n=11	106 (20)	120 (29)	109 (38)	103 (23)	103 (30)	109 (23)		> 0.122	111 (27)	98 (31)	122 (44)		> 0.206
	PTD n=9	131 (32)	121 (28)	129 (49)	122 (33)	128 (34)	129 (37)			138 (30)	119 (34)	119 (34)		
RBC deformability at 0.30 Pa (a.u)	CTL n=10	0.089(0.024)	0.088(0.027)	0.089(0.022)	0.088(0.018)	0.079(0.041)	0.078 (0.027)	Temps 0.030	Temps x groupe 0.081 > 0.302	0.073(0.028)	0.081(0.021)	0.072 (0.023)		> 0.300
	PTD n=9	0.084(0.022)	0.080(0.019)	0.084(0.017)	0.073(0.013)	0.085(0.020)	0.075 (0.017)			0.073(0.021)	0.065(0.019)	0.071 (0.017)		
RBC deformability at 30 Pa (a.u)	CTL n=10	0.606(0.021)	0.604(0.017)	0.599(0.022)	0.592(0.031)	0.600(0.037)	0.602 (0.019)		> 0.202	0.603(0.018)	0.611(0.009)	0.599 (0.019)		> 0.102
	PTD n=9	0.596(0.026)	0.597(0.021)	0.603(0.016)	0.604(0.014)	0.595(0.016)	0.596 (0.030)			0.591 (0.02)	0.597(0.020)	0.592 (0.021)		

Les valeurs sont présentées en moyenne ± SD

### *c) Biomarqueurs du stress oxydatif*

#### Effets simples

Les concentrations des biomarqueurs oxydatifs suivants AOPP, MPO, MDA, nitrotyrosine, HSP70, NO, SOD et glutathion (*Figures 44-45*) n'étaient pas significativement différentes entre PTDs et CTLs (tous les  $P > 0.100$ ). Les concentrations de HSP70 et SOD avaient tendance à être plus élevées chez les PTDs comparés aux CTLs ( $P = 0.061$  ;  $P = 0.079$ , respectivement).

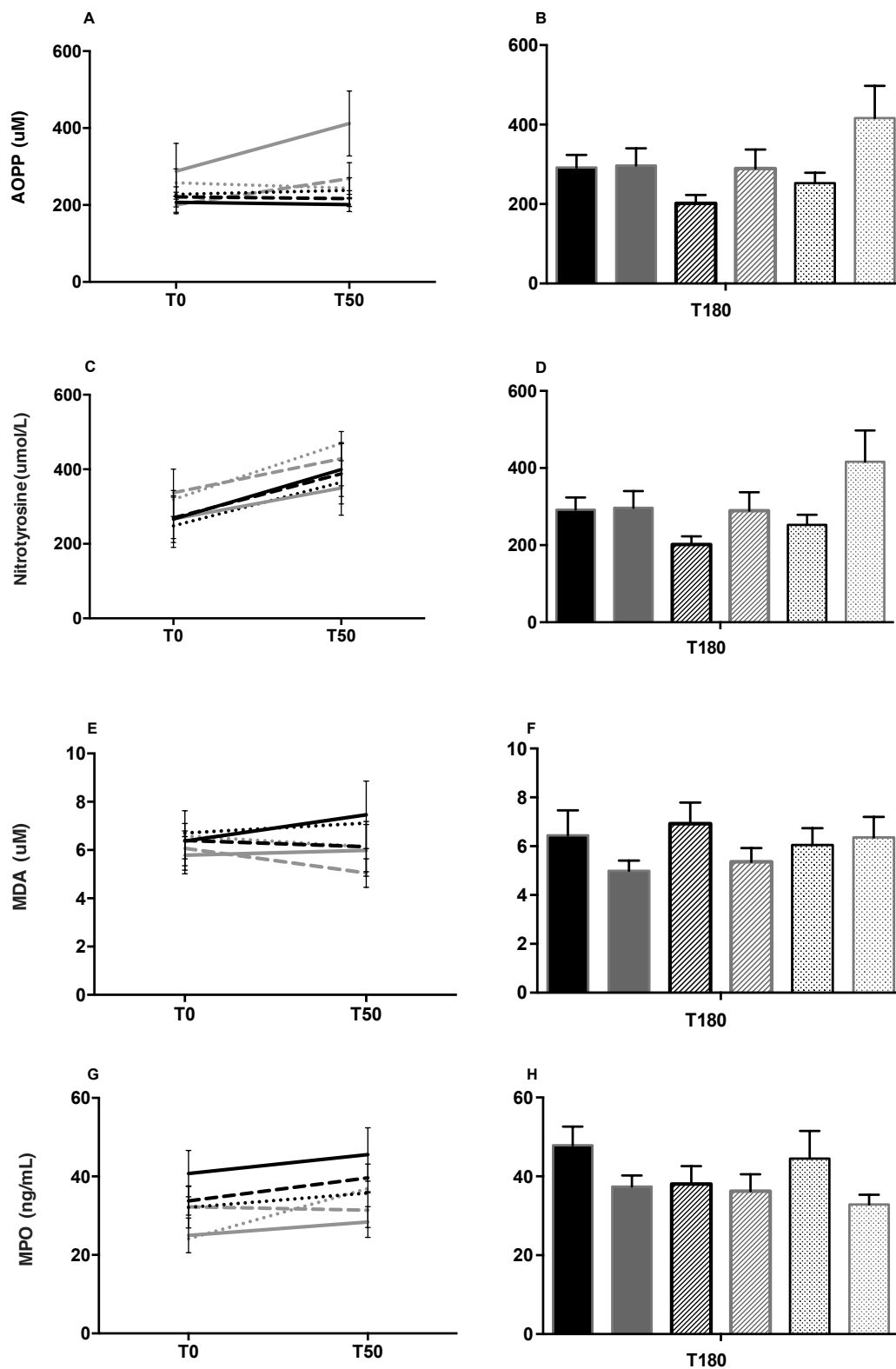
L'activité de la catalase était plus faible chez les PTDs comparativement aux CTLs, à T50 comparé à T0 et durant la récupération T180 ( $P = 0.010$  ;  $P = 0.038$ , respectivement).

Pour tous les groupes, la concentration plasmatique de MPO, d'AOPP, de Nitrotyrosine, d'HSP70 et de NO étaient plus élevée à T50 comparativement à T0 indépendamment des conditions environnementales ( $P = 0.023$  ;  $P = 0.048$  ;  $P < 0.001$  ;  $P = 0.041$  ;  $P = 0.018$ ). Les conditions environnementales n'ont pas affecté les biomarqueurs.

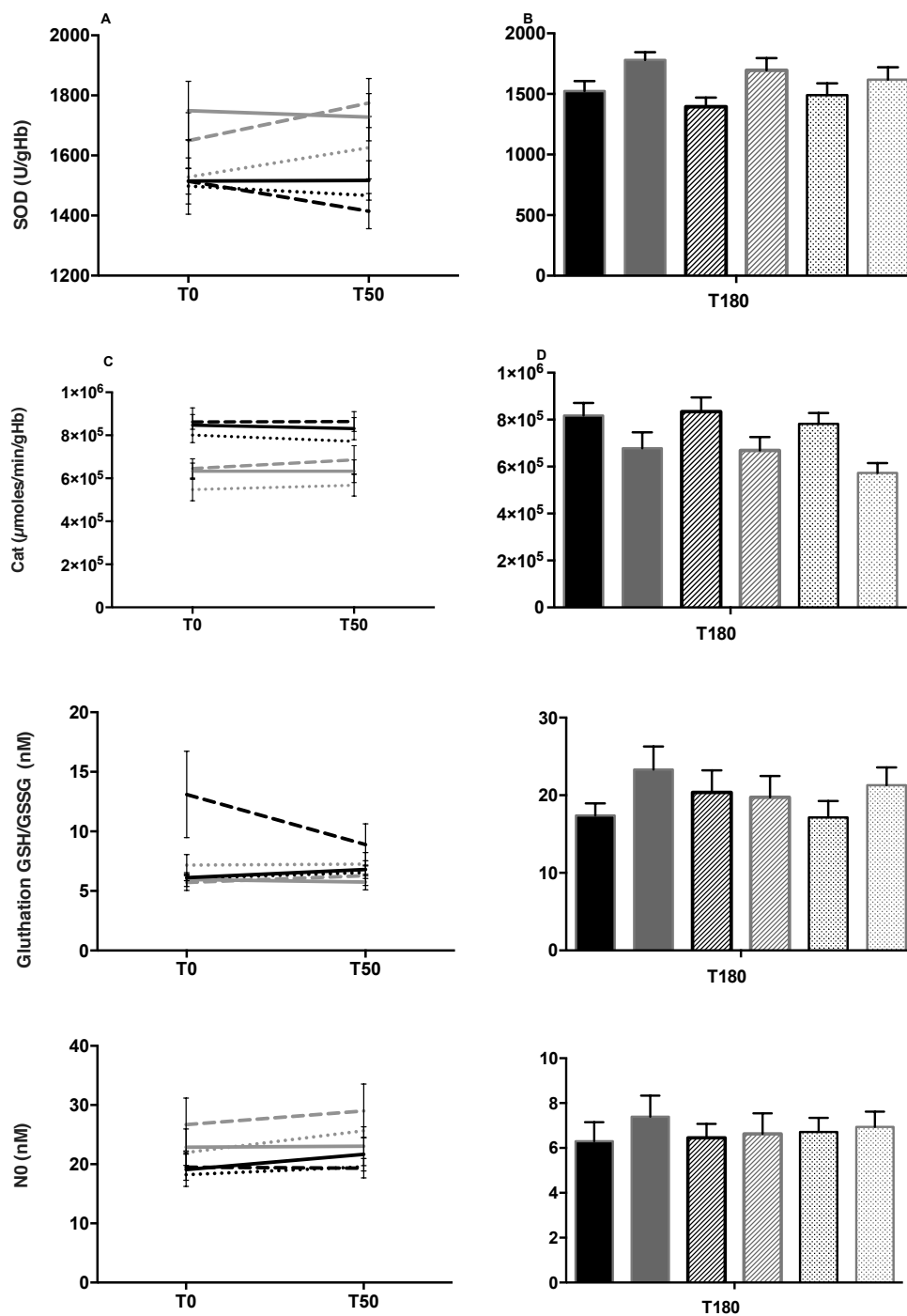
#### Effets d'interactions :

Deux effets d'interactions ont été mis en évidence comprenant groupe x temps pour la l'AOPP ( $P = 0.048$ ) et groupe x condition pour la Nitrotyrosine ( $P = 0.049$ ), montrant que la concentration plasmatique d'AOPP par groupe a été affectée par le temps avec une augmentation chez les PTDs comparé aux CTLs à l'issu de l'exercice.





**Figure 44** Comparaison de la concentration AOPP, (B) MPO (ng/mL), (C) MDA (uM) and (D) nitrotyrosine (ng/mL entre les PTs (lignes grises) et les CTLs (lignes noires) en pre-exercice (T0) immédiatement post-exercice (T50) et durant la récupération (T180), en ENRN (lignes continues), en ECRC (lignes discontinues) et en ECRN (lignes en pointillées). Les valeurs sont présentées en moyenne  $\pm$  SEM.



**Figure 45** Comparaison de la capacité anti-oxydantes et de la concentration NO plasmatique (A) Superoxyde dismutase (U/gHb), (B) catalase (µmoles/min/gHb), (C) Glutathione (nM), (D) NO (umol/L), en pre-exercice (T0) immédiatement post-exercice (T50) et durant la récupération (T180), entre les PTDs (lignes grises) et les CTLs (lignes noires) en ENRN (lignes continues), en ECRC (lignes discontinues) et en ECRN (lignes en pointillées). Les valeurs sont présentées en moyenne ± SEM.

## 6. Régulation du métabolisme glucidique

### Effets simples (figure 46-47)

Les concentrations plasmatiques de lactate et d'insuline n'étaient pas différentes entre les groupes (tous les  $P > 0.087$  lactate).

La glycémie était significativement plus faible chez les PTDs comparativement aux CTLs indépendamment des conditions environnementales ( $P = 0.016$ , analyse T0 vs T50). La concentration plasmatique de cortisol durant la récupération (T180) était significativement plus faible chez les PTDs comparativement aux CTLs ( $P = 0.003$ ).

Pour l'ensemble des participants l'exercice a eu pour effet d'augmenter la concentration de lactate, d'insuline, cortisol et de glucose par rapport au repos dans toutes les conditions ( $P < 0.001$  ;  $P = 0.001$  ;  $P < 0.001$  ;  $P = 0.001$ , respectivement). Durant la récupération le taux a diminué à T180 par rapport à T110 pour tous les groupes ( $P < 0.001$ ).

### Effets d'interactions et post-hocs :

Des effets d'interactions ont été mis en évidence comprenant le groupe x temps x condition pour la glycémie et la lactatémie pour les analyses effectuées T110 vs T180 ( $P = 0.026$  ;  $P = 0.036$ , respectivement). Les analyses post-hocs ont révélé :

### Chez les PTDs

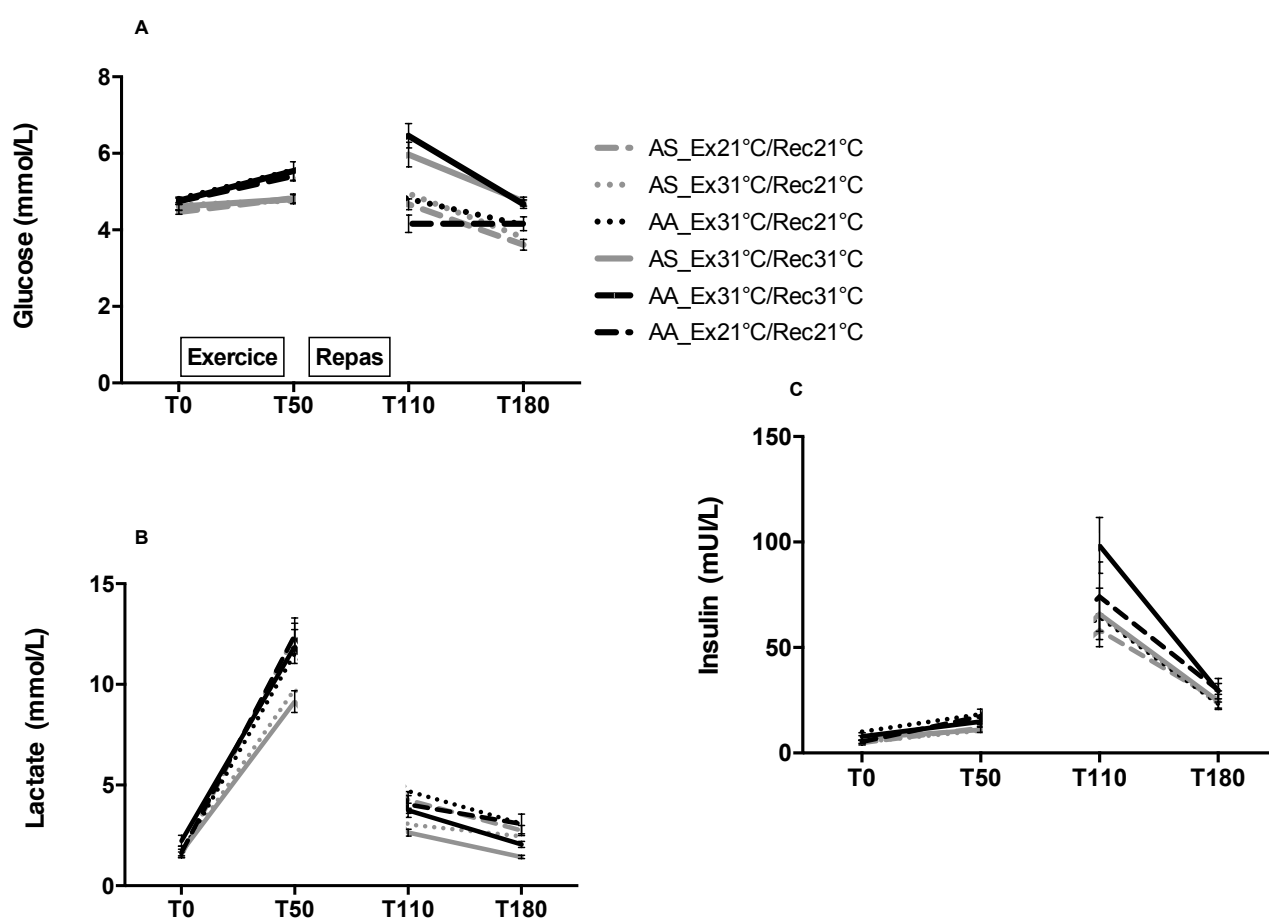
La glycémie était plus faible à T180 par rapport à T110 dans toutes les conditions ENRN, ECRN et ECRC ( $P = 0.046$  ;  $P = 0.020$  ;  $P = 0.005$ , respectivement), avec des valeurs plus basses dans la condition ECRC par rapport aux deux autres conditions ENRN et ECRN ( $P = 0.026$  ;  $P = 0.020$ , respectivement).

Concernant le taux de lactate, il était plus élevé dans la condition ENRN par rapport aux deux autres conditions ECRC et ECRN (tous les  $P < 0.001$ ). La lactatémie était plus basse à T180 par rapport à T110 dans les conditions ENRN et ECRC ( $P < 0.001$  ;  $P = 0.004$ ). Avec des niveaux à T110 plus élevés en ENRN par rapport aux autres conditions ECRC et ECRN ( $P < 0.001$  ;  $P = 0.003$  respectivement). En revanche, à T180 la lactatémie était plus basse en ECRC comparativement aux conditions ENRN et ECRN ( $P < 0.001$  ;  $P = 0.020$ ).

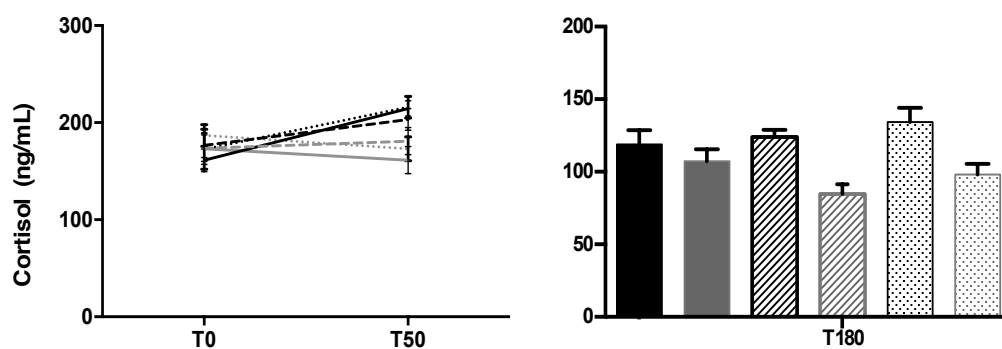
Chez les CTLs

La glycémie a diminué dans toutes les conditions ( $P < 0.003$ ) à T50 par rapport à T0. Nous avons également observé une diminution durant la récupération à T180 par rapport à T110 uniquement dans la condition ECRC ( $P < 0.001$ ). La glycémie a été affectée par les conditions environnementales, nous avons observé des valeurs plus basses en ECRC comparativement aux autres conditions ENRN et ECRN (les  $P < 0.001$ ).

La lactatémie était plus basse à T180 par rapport à T110 dans les conditions ECRN et ECRC (tous les  $P < 0.00$ ).



**Figure 46** Comparaison de la glycémie (mmol/l) (A), de la lactatémie (mmol/l) (B) et insuliniémie (mU/L) (C) entre les PTDs (lignes grises) et les CTLs (lignes noires) en pre-exercice (T0) immédiatement post-exercice (T50) et durant la récupération (T110, T180), dans les différentes conditions environnementales ENRN (lignes continues), en ECRC (lignes discontinues) et en ECRN (lignes en pointillées). Les valeurs sont présentées en moyenne  $\pm$  SEM.



**Figure 47** Cortisolémie (ng/mL) entre les PTDs et les CTLs en pre-exercice (T0) immédiatement post-exercice (T50) et durant la récupération (T180), dans les différentes conditions environnementales ENRN (lignes continues), en ECRC (lignes discontinues) et en ECRN (lignes en pointillées). Les valeurs sont présentées en moyenne  $\pm$  SEM.

---

# **DISCUSSION**

---

## Rappel des hypothèses et résumé des résultats principaux

L'axe général de ces travaux de thèse s'est orienté vers la caractérisation de la fonction microvasculaire, en réponse à l'exercice réalisé dans des conditions particulières chez les porteurs du trait drépanocytaire en comparaison avec leurs pairs non porteurs.

Compte tenu de la présence d'hémoglobine S au sein des GRs des PTDs et des complications survenant à l'exercice dont ils sont parfois victimes, nous avons supposé que l'interaction constante des GRs (avec HbS) et des cellules endothéliales pourrait perturber la fonction microvasculaire chez ces derniers comparativement aux contrôles. Nous avons également supposé que ces réponses seraient d'autant plus marquées dans un environnement stressant que confère un climat chaud et humide.

Étant dans un contexte d'exploration de la physiopathologie des complications survenant à l'exercice chez les PTDs, nous avons également émis l'hypothèse que les déterminants de la fonction microvasculaire (stress oxydatif, hématologie/hémorhéologie, hémodynamique) seraient perturbés.

**Ces travaux ont finalement mis en évidence que :**

### Etude TDEx

#### Au repos :

Les PTDs ont une perfusion et réactivité microvasculaire préservées, avec une augmentation de ces dernières en environnement chaud similaire aux CTLs.

#### Immédiatement après exercice :

- Aucune manifestation cliniquement grave n'a été recensée, de même les biomarqueurs d'atteinte cardiaque et de rhabdomyolyse étaient dans les limites de références en réponse à l'exercice pour l'ensemble des participants.
- Les PTDs ont une perfusion cutanée plus élevée que les CTLs.

- Concernant les déterminants de la fonction microvasculaire : (1) les paramètres hémorhéologiques n'étaient pas strictement différents de manière générale entre les PTDs et les CTLs, nous avons néanmoins noté une viscosité à bas taux de cisaillement plus élevée et un seuil de désagrégation plus important certainement en lien avec l'augmentation observée au niveau de la perfusion (2) concernant la balance pro/anti-oxydante, nous avons également noté un stress oxydatif accru avec une activité enzymatique de la catalase plus faible et une oxydation protéique plus élevée chez les PTDs par rapport aux CTLs.

Durant la récupération :

- Aucune manifestation cliniquement grave n'a été recensée, les biomarqueurs d'atteinte cardiaque et de rhabdomyolyse ont subi une évolution plutôt normale, en dehors des valeurs pathologiques.
- Pour les PTDs : la perfusion étaient significativement plus basses durant la récupération comparativement à immédiatement post-exercice lorsque la récupération était effectuée en environnement neutre. En revanche, lorsque la totalité de la session était réalisée en environnement chaud (ECRC), aucune différence n'a été mise en évidence immédiatement post-exercice comparé à la mesure durant la récupération. Cependant, l'analyse statistique a montré que les PTDs avaient une perfusion plus élevée dans ces conditions comparativement aux CTLs.
- Pour les CTLs : comme pour les PTDs lorsque la totalité de la session était réalisée en environnement chaud (ECRC). La perfusion et la réactivité microvasculaire étaient significativement plus basses durant la récupération comparativement à la mesure immédiatement post-exercice lorsque l'exercice était effectué à 31 °C et la récupération à 21 °C.
- D'un point de vue hémato-hémorhéologique : Le taux de leucocytes n'a pas varié entre la période pré et post-exercice chez les PTDs lorsque la totalité de la session était réalisée à 31 °C (ECRC). Comparativement aux CTLs où l'on a observé une augmentation significative dans cette même condition. Les paramètres hémorhéologiques n'étaient pas sensiblement différents entre les deux groupes.



- La concentration sanguine de cortisol était significativement plus basse chez les PTDs comparativement aux CTLs indépendamment des conditions et du temps

Etude ancillaire (exclusivement chez les CTLs) :

Cette étude a été menée en parallèle du projet TDEx, elle nous a permis d'investiguer les effets de la prise alimentaire sur la fonction microvasculaire cutanée en environnement chaud chez des personnes en bonne santé CTLs (hommes et femmes), en s'affranchissant des effets de l'exercice et du statut hémoglobinémique.

Nous avons constaté : la perfusion et la réactivité microvasculaire cutanée qui étaient plus basses à l'état post-prandial par rapport à l'état pré-prandial en environnement neutre (21 °C) pour les deux groupes. La perfusion cutanée était plus élevée de manière non surprenante dans la condition 31 °C pour l'ensemble des participants comparé à la condition 21 °C, néanmoins altéré en post-prandial chez les hommes dans cette même condition. Chez les femmes en revanche, nous n'avons pas obtenu de différence entre l'état pré et post-prandial sur la perfusion et la réactivité microvasculaire cutanée en environnement chaud.

---

## A. Adaptations à l'exercice de haute intensité

### 1. Performances physiques et TD

Ces dernières années, plusieurs études ont cherché à mettre en évidence des spécificités des capacités physiques et/ou les réponses physiologiques à l'exercice (Marlin et al., 2008 ; Sara et al., 2006, Bilé et al., 1996). Ce n'était pas l'objectif principal ici, mais les résultats de la présente étude n'ont pas mis en évidence de différence entre CTLs et PTDs pour les mesures de la puissance d'exercice ou de la fréquence cardiaque pendant l'exercice. Bien qu'il y ait quelques controverses, des similitudes ont été démontrées entre les CTLs et les PTDs en ce qui concerne la condition physique et les adaptations cardiovasculaires à l'exercice par des études antérieures de notre groupe (Marlin et al., 2008 ; Sara et al., 2006), ainsi que par d'autres (Bilé et al., 1996). Pourtant, à l'heure actuelle, ils présentent toujours plus de complications à l'exercice que les non porteurs et la physiopathologie de ces événements reste floue (Longo & Shaines, 2018; Marcombes et al., 2020; Murugappan et al., 2019).

## **2. Evolution des biomarqueurs d'atteinte musculaire et cardiaque à l'exercice et TD**

### *a) En environnement thermoneutre : profil général*

La rhabdomyolyse d'effort (RE) est un syndrome biochimique et clinique potentiellement mortel résultant de la fuite du contenu intracellulaire dans la circulation systémique en raison de la destruction massive des myocytes (Khan, 2009 ; Kenney et al., 2012 ; Zimmerman & Shen, 2013). Cela comprend le relargage du contenu cellulaire dans la circulation tel que : la créatine kinase (CK), la lactate déshydrogénase (LDH), l'aldolase, la myoglobine, le pigment de l'hème et les électrolytes (fer, potassium).

L'accumulation de ces composants pourrait sérieusement entraver la circulation, la fonction rénale et entraîner l'arrêt cardiaque par l'acidose métabolique et l'hyperkaliémie que cela génère (Zimmerman & Shen, 2013).

Ce phénomène a été relaté dans la plupart des rapports de cas chez les PTDs à l'issue de l'exercice physique (Anzalone et al., 2010 ; Quattrone et al., 2015 ; Saxena et al., 2016 ; Thogmartin et al., 2011). De plus, selon Nelson et al (Nelson et al., 2016) le risque de rhabdomyolyse d'effort serait 54% fois plus élevé chez les PTDs comparativement à la population générale. L'exercice reste l'une des causes principales dans la survenue de rhabdomyolyse à plus forte raison lorsque l'intensité et la durée sont élevées. Le diagnostic de la rhabdomyolyse repose sur un ensemble de signes biochimiques et cliniques. On note généralement une augmentation substantielle des composés intracellulaires au sein de la circulation sanguine, de plus, les individus se plaignent de douleurs et faiblesses musculaires, et dans certains cas s'effondrent durant l'exercice (Khan, 2009). Dans notre étude, malgré des conditions propices à ce type d'événement, aucune manifestation cliniquement grave n'a été observée. La variation de la CK souvent, pris comme élément diagnostique le plus pertinent n'était pas anormalement élevée, nos valeurs étaient en dehors des zones critiques (> 10 fois sa valeur de référence).

Les variations que nous avons rapportées avec l'exercice se produisent de manière conventionnelle chez les individus sains après un exercice intense (Pedersen et al., 2019) et même chez les PTDs après un exercice sous-maximal (Messonnier et al., 2012) ou maximal (Gozal et al., 1992; Wang et al., 2021).

Comme l'exercice, d'autres facteurs sont en mesure d'entraîner une élévation physiologique du taux de CK dans la circulation tels que l'entraînement, l'ethnie, une masse musculaire importante et la déshydratation (Brancaccio et al., 2007). Le pic d'augmentation de la CK apparaît dans les 2h à 12h suivant la lésion et culmine dans les 24h à 72h (Gupta et al., 2021). Parfois on note une élévation supérieure à 30 fois les limites de référence sans observer d'altérations (Moghadam-Kia et al., 2016)

En dépit de ces fluctuations, la CK contrairement à la myoglobine, reste plus sensible pour diagnostiquer la RE. La myoglobinurie ne se produit pas sans rhabdomyolyse, mais la rhabdomyolyse n'entraîne pas nécessairement une myoglobinurie visible. La diminution de la concentration de myoglobine observée dans notre étude provient probablement de la rapidité de sa clairance rénale (1 à 2 h après le début de l'exercice). Son augmentation est plus précoce à l'exercice que celle de la CK, mais elle chute également plus rapidement (Gupta et al., 2021). La LDH fournit également des indications sur la destruction cellulaire de manière générale mais n'est pas spécifique à un type de cellules, autrement dit elle ne représente pas un marqueur spécifique de la RE. De plus, ces taux élevés à l'exercice sont le témoin d'une adaptation métabolique. Chez les patients drépanocytaires HbSS, elle est utilisée comme marqueur hémolytique indirect, sa concentration sérique est souvent élevée lors des crises vaso-occlusives (Stankovic Stojanovic et al., 2012). On note également une concentration élevée en dehors de ces phénomènes en rapport aux dommages cellulaires multi-organiques liés à la drépanocytose (Kato et al., 2013). Ici, nous n'avons pas observé de changements particuliers liés à l'exercice chez les CTLs et les PTDs, comme d'autres auparavant l'ont signalé dans cette même population (Messonnier et al., 2012 ; Wang et al., 2021).

Dans le but de déterminer une potentielle atteinte myocardique, nous avons également quantifié la troponine I, le peptide cérébral natriurétique (NT-proBNP) et l'isoforme de la CK que l'on retrouve dans le muscle cardiaque la CK-MB. Nous avons observé une augmentation de ces biomarqueurs excepté la troponine sans différence entre les PTDs et les CTLs. L'exercice de haute intensité et/ou de longue durée est connu pour augmenter ces biomarqueurs sans répercussions sur les fonctionnalités myocardiques (Shave et al., 2010). Klenk et al (Klenk et al., 2021) ont récemment rapporté la troponine cardiaque I et la NT-pro-BNP, à l'issue d'une course de 4486 Km chez des personnes saines entraînées, malgré le remodelage cardiaque observé à l'issue de cette épreuve aucun effet négatif sur la fonction ventriculaire n'a été rapporté.

A notre connaissance, exceptés les rapports de cas de mort subite à l'exercice chez les PTDs, il n'existe pas d'informations sur ces marqueurs.

### *b) En environnement chaud*

La rhabdomyolyse d'effort peut être causée par la pratique en environnement chaud, d'ailleurs le coup de chaleur à l'effort a souvent été confondu avec la rhabdomyolyse d'effort chez les PTDs (Khan, 2009). Cependant, de récentes études ont rapporté que les PTDs ne présentaient pas plus de risque de coup de chaleur que les personnes à hémoglobine normale (Nelson et al., 2018 ; Singer et al., 2018). Nous n'avons pas mis en évidence de signes particuliers sur l'ensemble des biomarqueurs liés à la condition environnementale à l'exception des taux plasmatiques plus bas de LDH et de myoglobine en environnement chaud comparés à l'environnement neutre.

Ces résultats ont déjà été rapportés par d'autres auteurs uniquement chez des personnes à hémoglobine normale (Kenney et al., 2012). Ces auteurs ont suggéré que la diminution de la puissance aérobie pourrait être à l'origine de la diminution des dommages cellulaires. Dans notre étude, les performances physiques évaluées par la puissance aérobie et consommation maximale en oxygène n'étaient pas différentes entre les sessions et entre les PTDs et les CTLs. Il convient de noter, que l'acclimatation, le bon maintien de l'équilibre hydrique et une condition physique acceptable éloignent les risques d'évènements graves et de perturbations biochimiques, ce qui aurait pu potentiellement protéger les participants ici.

### **Orientation future :**

*L'interprétation de certains biomarqueurs en dehors des états pathologiques connus et bien documentés reste difficile car ils sont sujets à des variations physiologiques de toutes sortes notamment la CK (âge, conditionnement physique, type d'exercice avec ou sans impacts, ethnie, moment de prélèvement, masse musculaire, sexe etc.). Une récente étude comparant des PTDs et des CTLs pré-conditionnement, fin de préparation initiale de la saison et post-saison (dernier match) de football (Division I) a rapporté des valeurs dix fois supérieures aux limites de référence de repos chez les CTLs et PTDs et aucun incident n'a été déclaré même durant la pré-saison (Wang et al., 2021). Les auteurs ont également noté que ces valeurs très hautes de CK se normalisent comme celles des sujets sains jusqu'à obtenir des valeurs dans les intervalles de références même après l'exercice.*

*Ce type d'étude devrait être privilégié pour comprendre la cinétique des biomarqueurs et déceler d'éventuelles spécificités entre les PTDs et les CTLs.*

Tableau 29 Comparaison des biomarqueurs selon le type d'exercice chez les PTDs vs CTLs présents dans la littérature

Paramètres	Limites de références à l'état physiologique	(Messonnier et al., 2012) <i>exercice sous-maximal 55% <math>\dot{V}O_{2max}</math> (sérum)</i>		(Gozal et al., 1992) <i>exercice maximal (TI)</i>		(Wang et al., 2021) <i>Suivis sur une saison football américain : Pré-cond/pré-saison/post-saison</i>
		<i>PTDs</i>	<i>CTLs</i>	<i>PTDs</i>	<i>CTLs</i>	
<b>Lactate Deshydrogénase</b>	208-378 (U/L)	240	354	477(RP)/ 450 (RA)	506 (RP)/ 412 (RA)	207/197/186 (PTDs)
						217/229/219 (CTLs)
<b>Créatine Kinase</b>	400	471	511	879(RP)/ 887(RA)	511(RP)/ 515(RA)	1617/530/691 (PTDs)
						1037/489/451(CTLs)
<b>CK-MB (isoforme cardiaque)</b>	0.18-3.28 (ng/mL)	-	-	-	-	-
<b>Myoglobine</b>	17-106 (ng/mL)	83	97	-	-	-
<b>Troponine</b>	< 0.047 99 <sup>ème</sup> percentile	-	-	-	-	-
<b>NT-proBNP</b>	< 300 (pg/ml)	-	-	-	-	-

*RP : récupération passive, RA : récupération active, TI :test incrémental*

L'analyse du ionogramme n'a pas mis en évidence d'anormalité chez les PTDs et les CTLs, puisque même à l'issue de l'exercice les valeurs étaient dans les limites physiologiques rapportées au repos, ces résultats sont en accord avec la littérature (analyse sérique ou plasmatique) (Gozal et al., 1992 ; Messonnier et al., 2012 ; Wang et al., 2021). En revanche, Wang et al ont mis en évidence un fait intéressant à considérer, les analyses sanguines de ces mêmes marqueurs n'ont pas révélé de différences entre les PTDs et les CTLs. Cependant, les joueurs PTDs avaient des [Na<sup>+</sup>], [K<sup>+</sup>] et [Cl<sup>-</sup>] urinaires et une perte hydrique après l'entraînement plus faibles par rapport à CTLs, *a contrario*, ces mêmes électrolytes étaient plus élevés dans la sueur chez les PTDs pour des quantités équivalentes de transpiration entre les PTDs et les CTLs, suggérant un mécanisme compensatoire en lien avec un moins bon fonctionnement rénal. Les auteurs ont également rapporté que les PTDs avaient une filtration glomérulaire et une gravité spécifique des urines plus faible (excrétion urinaire), et une concentration d'acide urique plus importante traduisant probablement une moindre capacité d'élimination des déchets, comparativement à leurs homologues non PTDs. L'augmentation de l'acide urique est également corrélée avec un stress oxydatif accru, son rôle en tant qu'antioxydant plasmatique a déjà été mis en évidence.

Des liens directs entre la défense anti-oxydante à l'issue de l'exercice devraient être étudiés en détails chez les PTDs, puisque ces derniers sont d'une part sujets à l'état basal à des complications rénales mais il semble également qu'ils présentent un stress oxydatif accru comparé aux CTLs.

## **B. Caractérisation de la fonction microvasculaire**

### ***1. Fonction microvasculaire cutanée au repos et trait drépanocytaire (TD)***

L'évolution de la perfusion cutanée mesurée au repos, était similaire entre les PTDs et les CTLs (figure 39) avec une nette augmentation en environnement chaud comparativement à l'environnement neutre.

Les indices de l'hyperhémie thermique (pic et le plateau) étaient également similaires entre les deux groupes. Ces données suggèrent que les PTDs ont une perfusion cutanée normale, et que la réserve vasomotrice est également préservée au repos. Ces résultats suggèrent également que la perfusion cutanée est en mesure de répondre adéquatement au stress thermique lié à l'exposition à la chaleur. Ainsi cela montre que les PTDs ont des processus thermorégulateurs préservés.

A notre connaissance, il s'agit de la première étude à avoir déterminé la fonction microvasculaire au repos dans divers environnements chez les PTDs. Jusqu'ici les données disponibles chez l'homme ont montré une altération de la fonction macrovasculaire, avec une rigidité artérielle accrue (Diaw et al., 2015 ; Ouédraogo et al., 2017). De manière générale, la rigidité artérielle est corrélée au risque cardiovasculaire et plus particulièrement au vieillissement vasculaire. La perte d'élasticité des gros troncs artériels augmente les charges pulsatiles dans les lits microvasculaires augmentant ainsi les résistances et le risque de lésion tissulaire (Boutouyrie et al., 2021). En partant des preuves que le dysfonctionnement microvasculaire précède l'atteinte des artères de conduit il devrait y avoir une altération de la fonction microvasculaire chez les PTDs au regard des données rapportées par Diaw et al et Skinner et al (Diaw et al., 2015 ; Skinner et al., 2018). Cependant, l'état actuel des connaissances ne fournit pas assez de preuves pour étendre ces conclusions aux PTDs, de plus notre résultat n'apporte pas non plus la preuve d'altération chez les PTDs.

Les données disponibles sur la réactivité vasculaire chez les PTDs ont été déterminées à partir d'un modèle murin. Skinner et al (Skinner, et al., 2020) ont montré à partir de tronçons aortiques (prélevés chez des souris HbAS et HbAA), que les souris HbAS comparativement aux souris HbAA présentaient une augmentation de la vasoconstriction en réponse à la phényléphrine et une diminution de la vasodilatation en réponse au stimulateur de la NOS (l'acétylcholine) et au donneur de NO (sodium nitroprusside-SNP). Ces résultats sont en cohésion avec les données disponibles chez l'homme (Diaw et al., 2015). Ces auteurs ont également observé une vasorelaxation plus importante chez les souris HbAS comparativement aux souris HbAA au niveau de l'artère mésentérique en réponse à l'Ach et au niveau de l'artère musculaire fémorale en réponse à l'Ach et au SNP (Skinner et al., 2020), suggérant une meilleure régulation du tonus vasomoteur au niveau des artères de résistances. Nos résultats semblent aller dans ce sens, bien que nous n'ayons pas montré de vasodilatation accentuée au repos mais à l'exercice nous faisons ce constat chez les PTDs comparé aux CTLs.

Plusieurs facteurs sont impliqués dans la régulation du tonus vasculaire, leur composition en fibres d'élastine, de collagène et leur densité en CMLVs, mais également la biodisponibilité de certains biofacteurs qui régulent l'homéostasie vasculaire tel que le NO (Murtada & Humphrey, 2018). A ce titre, Burgoyne et al (Burgoyne et al., 2012) ont montré que les taux de NO était 2.7 fois plus élevés dans l'aorte que dans l'artère mésentérique, ce qui suggère que la vasodilatation régulée par le NO pourrait nécessiter un niveau plus élevé de NO dans les artères élastiques (aorte) que dans les artères de résistances (mésentérique). Selon ces auteurs les voies qui contribuent à la vasorelaxation des CMLVs au sein des microvaisseaux autre que celles du NO pourraient être sollicitées plus précocement ; suggérant que dans les artères de résistances les voies permettant de compenser la diminution de la voie de la NO-GMPc serait plus souvent sollicitée.

D'autres études sont nécessaires chez l'homme pour vérifier ces différentes observations. Les particularités chez l'animal comme par exemple l'abondance des récepteurs alpha-adrénergiques dans les artères de résistance peuvent rendre compte d'une autre réalité celle de l'homme, même si jusqu'ici elles sont utiles pour déceler les mécanismes potentiellement impliqués dans le dysfonctionnement vasculaire.



## ***2. Fonction microvasculaire chez les PTDs en réponse à l'exercice***

Les événements mortels rapportés chez les PTDs suggèrent une altération dans le sens d'une réduction de la vasorelaxation en s'appuyant sur le modèle établi par Tripette et al., (Tripette et al., 2013) avec une réduction du NO ce qui n'a jamais été clairement démontré.

A première vue, nos résultats vont dans le sens d'une régulation plutôt favorable de la fonction microvasculaire durant la période post-exercice.

### *Une question de territoire*

Il est important de noter qu'ici nous nous sommes intéressés uniquement à la microcirculation de la peau glabre ce qui représente une limitation majeure dans l'interprétation des données en raison de leur non transférabilité systématique à l'ensemble du réseau. Les conclusions de nos résultats sont basées uniquement sur ce territoire (glabre) qui fournit des informations tout aussi précieuses sur la perfusion tissulaire et les mécanismes thermorégulateurs en raison de sa structure : anastomoses et rapport volume/surface des capillaires (Walløe, 2015). De plus, contrairement à la mesure de l'avant-bras, souvent utilisée comme substitut de la peau non glabre, la reproductibilité y est plus élevée compte tenu de l'espace réduit et de l'outil utilisé (Roustit et al., 2010), ce qui représente un point essentiel pour ces travaux de thèse impliquant plusieurs sessions expérimentales.

### *a) Profil général observé en environnement thermoneutre*

Nous avons montré que la perfusion était plus élevée immédiatement post-exercice comparativement à la récupération tardive comprenant une prise alimentaire. Autrement dit, il semble que la prise alimentaire après l'exercice ait eu pour effet de diminuer significativement la perfusion cutanée pour l'ensemble des participants (effet simple du temps  $P < 0.001$ ), avec des spécificités marquées en fonction du groupe. Pour les PTDs, la perfusion cutanée était diminuée lorsque la récupération était réalisée en environnement thermoneutre (ECRN et ENRN). Pour les CTLs en revanche, ce résultat était observé uniquement lorsque la récupération se faisait à 21 °C après avoir effectué l'exercice à 31 °C (ECRN).

La température cutanée et tympanique n'était pas différente entre les participants, dans ce cas ces paramètres ne permettent pas d'expliquer les différences entre les CTLs et les PTDs.

Nous avons constaté néanmoins, que les valeurs de perfusion immédiatement post-exercice (T50) étaient plus importantes que celles obtenues durant le repos chez les PTDs comparativement aux CTLs qui sont restés dans la même plage de valeurs ce qui est une réponse normale à l'issue de l'exercice comme l'ont montré d'autres auteurs (Potočnik & Lenasi, 2016; Saad et al., 2001). Les PTDs auraient eu pour une raison que nous pouvons expliquer ici un plus grand besoin de vasodilater en réponse à l'exercice.

De plus, on constate que les CTLs en réponse à l'exercice en ambiance chaude comme les PTDs avaient des valeurs significativement plus importantes à T50 comparativement à T180. Ainsi, cela montre bien que la stimulation de l'exercice combinée à la chaleur a bel et bien modulé les réflexes centraux pour initier une vasodilatation périphérique afin d'améliorer la perfusion cutanée pour évacuer la chaleur résiduelle. Ce qui expliquerait la nette différence une fois que les AVAs se referment (T50 vs T180 en ECRN) pour redistribuer le sang vers les territoires splanchniques pour la digestion comme d'autres l'ont signalé au repos (Reminy et al., 2020 ; Rossi et al., 1998).

Parker et al (Parker et al., 2020) ont rapporté l'effet inverse avec une vasodilatation cutanée à l'issue de l'exercice, mesurée par laser doppler ultrason. Ces auteurs ont mesuré au niveau des muscles de la jambe ce qui est compatible avec nos résultats, la fermeture des AVAs servirait à rediriger le flux sanguin vers les territoires splanchniques et musculaires prioritaires à ce moment-là. Pour assurer les mécanismes de digestion et le réapprovisionnement de la réserve en glycogène utilisé durant l'exercice. On pourrait supposer qu'après une heure de récupération dans des conditions confortables (21 °C) ils aient retrouvé un équilibre thermique. Sachant que notre cohorte était entièrement constituée de personnes acclimatées depuis leur naissance à l'environnement chaud. L'acclimatation à la chaleur permet une mise en place précoce des processus thermorégulateurs avec une vasodilatation périphérique déclenchée à des seuils de température plus basse (Johnson, 2010). Le mécanisme d'évaporation est également rendu plus efficace, par une plus grande réactivité et densité des glandes sudoripares. Ainsi que par la répartition uniforme de la sueur à la surface du corps chez les personnes acclimatées (Sawka et al., 2011).

### Particularités chez les PTDs

L'augmentation de la perfusion chez les PTDs pourrait être en partie expliquée par une vitesse de déplacement des GRs plus importante. L'analyse statistique a révélée une tendance à l'augmentation de la vitesse d'écoulement chez ces derniers comparés aux CTLs. Cette dernière serait une adaptation probable au volume corpusculaire moyen (VGM) des GRs retrouvé significativement plus faible chez les PTDs comparativement aux CTLs. Les GRs de plus petit volume se déplaceraient plus rapidement.

### Réponse hyperhémique : au chauffage local

La réponse biphasique (pic et plateau) typique liée au chauffage local a été observée chez tous les PTDs et aucune différence n'a été révélée entre les PTDs et les CTLs suggérant ainsi qu'ils ne présentaient pas d'altération de la réserve vasomotrice, contrairement aux patients drépanocytaires SC et SS qui depuis le stade de l'adolescence présentent des dysfonctionnements réduisant la contribution nerveuse dans l'adaptation du débit local cutané (Möckesch et al., 2017).

On pourrait également supposer que ces derniers ont des mécanismes locaux (axonal et NO) préservés en réponse à l'exercice d'une part et à la chaleur environnementale additionnelle d'autre part puisque les valeurs étaient plus élevées en réponse au chauffage local pour tous (PTDs et CTLs), ces résultats sont en accord avec la littérature, chez des personnes non acclimatées (Rendell et al., 1997).

Pour tenter de comprendre les mécanismes sous-jacents de la variation de la perfusion cutanée observée chez les PTDs et les CTLs, les signaux de LDF ont été analysés au travers de l'analyse spectrale par ondelette de Morlet. Cependant, mise à part la démonstration des phénomènes physiologiques propres à la récupération post-exercice, aucune spécificité liée au trait drépanocytaire n'a été observée au repos et après l'exercice. Les analyses ont globalement mis en évidence la diminution du spectre total avec la diminution de la sollicitation du tonus sympathique, des contraintes de cisaillement capables de réguler le diamètre des CMLVs par la libération du NO directement par ces cellules et l'action du NO libérées par les CEs.

### *b) Particularités liées à l'environnement chaud*

Lorsque la totalité de la session (exercice et récupération) était réalisée à 31 °C indépendamment du groupe, aucun changement au niveau de la perfusion cutanée n'a été observé entre T50 et T180. Ces résultats ne sont pas surprenants, en effet la dilatation des artéριοles se produit de manière conventionnelle pour permettre l'évacuation de la chaleur métabolique résiduelle à l'issue de l'exercice. On suppose également que le maintien d'une perfusion cutanée adéquate est indispensable afin de maintenir une température interne au seuil, durant la période de récupération surtout quand celle-ci s'effectue dans un environnement chaud. L'effet d'interaction groupe x condition, a montré que les PTDs présentaient une perfusion plus élevée marquée dans la condition ECRC.

Pourtant, le taux de NO plasmatique, les températures cutanée et corporelle n'étaient pas différents en valeur absolue ou en pourcentage d'augmentation, entre les deux groupes. Cependant, les déterminants de la perfusion à savoir le CMBC et la velocity, analysés séparément ont montré que les PTDs avaient une tendance d'augmentation de la vitesse d'écoulement et à l'inverse une diminution du CMBC probablement pour maintenir un apport métabolique adéquat pendant l'exercice et la récupération.

#### **Réponse hyperhémique : au chauffage local**

Comme nous l'avons décrit en amont, les indices de réactivité vasculaire étaient similaires entre les PTDs et les CTLs, cependant des particularités ont été mis en évidence une fois de plus sur les déterminants de la perfusion. Lors réponse plateau (NO-dépendante), la vitesse d'écoulement du sang était plus importante chez les PTDs comparativement aux CTLs. En revanche, la CMBC était significativement plus faible lors de cette même phase. Ces données suggèrent que la vitesse d'écoulement plus élevée permettrait de compenser la concentration plus faible en globules rouges circulant chez les PTDs comparé aux CTLs, cela expliquerait pourquoi la réponse hyperhémique est similaire entre les CTLs et les PTDs. Pourtant malgré ces observations les taux de NO plasmatique et l'hématocrite n'étaient pas différents entre les PTDs et les CTLs au repos comme à l'exercice. Si les taux d'hématocrite étaient plus faibles chez les PTDs par rapport aux CTLs on pourrait aisément suggérer que la vitesse des GRs soit une compensation pour une meilleure oxygénation.

De même des taux de NO plus élevés auraient traduit une plus grande vasodilatation pour un meilleur débit sanguin. Cela aurait permis d'expliquer au moins en partie, l'élargissement de certains capillaires observé par Vincent et al chez les PTDs.

### **Ces observations soulèvent certaines interrogations, qui n'ont pas pu être vérifiées ici**

*L'augmentation de la perfusion serait-elle liée à une moindre réactivité vasculaire, pour rappel les structures microvasculaires des régions glabres (AVAs, sphincters capillaires etc) sont entièrement sous contrôle des nerfs noradrénergiques et leur vasodilatation est le résultat du retrait passif du tonus constricteur. Ainsi de moins grandes fréquences de stimulation sympathique, peuvent maintenir un flux sanguin accru ? est-ce le signe précoce d'un potentiel dysfonctionnement nerveux ?*

*L'augmentation de la perfusion observée chez les PTDs pourrait-elle traduire le phénomène observé par Vincent et al à savoir un élargissement de certains capillaires et une raréfaction pour certains traduisant une densité de capillaires globalement plus faible et une optimisation de ceux qui existent (modifications structurelles). Ainsi on pourrait supposer que les événements ischémiques à répétitions changeraient la structure vasculaire. **Quelle est la place de la fonction microvasculaire dans ces changements structurels ?***

### **3. Les déterminants potentiels de la fonction microvasculaire**

#### **Evolution de la viscosité au cours de la période post-exercice : profil général**

D'un point de vue hémorhéologique nos résultats ont montré pour l'ensemble des participants une évolution tout à fait conventionnelle rapportée dans plusieurs études à l'issue d'un exercice de pédalage soit : une viscosité sanguine augmentée à l'issue de l'exercice (T50) et un retour vers des niveaux pré exercice durant la récupération (T180) attribuable à l'augmentation de l'hématocrite, du lactate sanguin, de l'agrégation des GRs et à la diminution de la déformabilité des GRs (0.30 Pa), observé à l'issue de nos expérimentations et en accord avec la littérature.

Selon nos résultats, la viscosité sanguine est diminuée lors de la récupération à 31 °C, indépendamment du groupe et pour la quasi-totalité des taux de cisaillement appliqués. On pourrait supposer que la diminution de l'hématocrite et l'agrégation des GR, ai contribué à la diminution de la viscosité dans ces conditions.

Les PTDs présentaient une viscosité plus importante que les CTLs en post-exercice et durant la récupération à bas taux de cisaillement (11.45, 22.5mPa.s-1). Nous avons également observé des tendances de viscosité accrues à des taux de cisaillement plus importants (45mPa.s-1) ( $P = 0.059$ ) immédiatement post exercice et durant la récupération (90mPa.s-1) ( $P = 0.050$ ). Ces particularités n'ont rien de surprenant car plusieurs auteurs auparavant ont signalé des perturbations hémorhéologiques au repos et à l'exercice persistant parfois jusqu'à 24 voire 48 h après ce dernier (Connes et al., 2006b; Monchanin et al., 2005; Tripette et al., 2007). L'indice d'amplitude d'agrégation était significativement augmenté chez les PTDs comparé aux CTLs suggérant probablement une capacité à former des agrégats plus importants, ce qui pourrait être lié à l'augmentation du seuil de désagrégation mise en évidence par Tripette et al, montrant ainsi que chez les PTDs les agrégats formés sont plus robustes et par conséquent nécessite une force accrue pour les disperser. Dans le cas où la pression sanguine n'est pas assez importante, ces agrégats peuvent se retrouver dans la macrocirculation. Ici, lorsque l'analyse statistique était conduite pour les trois temps (T0 vs T50 vs T180) une interaction temps x condition x groupe a été trouvée. Cependant, les post-hocs n'ont rien révélé de pertinent incluant le groupe. Mises à part ces quelques différences nous n'avons pas noté de perturbations hémorhéologiques chez ces derniers.

L'accroissement de la viscosité durant l'exercice est un phénomène favorable voire nécessaire dans une certaine mesure pour réguler efficacement la perfusion tissulaire. L'augmentation des contraintes de cisaillement qui en résulte stimule la production de NO endothéliale permettant ainsi d'accroître le flux sanguin vers les territoires prioritaires (peau, muscles). Dans le cas où il existerait un dysfonctionnement endothélial NO l'augmentation de la viscosité représenterait un risque de stase vasculaire favorable aux phénomènes vaso-occlusifs semblables à ceux observés dans la drépanocytose. Concernant nos résultats, les concentrations plasmatiques de NO étaient plus élevées à l'issue de l'exercice comparées aux concentrations de repos et aucune différence n'a été observée entre les groupes, traduisant une adaptation normale à l'exercice semblable à ce qui est rapporté chez les personnes saines.

Evolution de la balance pro/anti-oxydante au cours de la période post-exercice : profil générale

L'augmentation de la consommation en oxygène, l'activation des cellules immunitaires provoquée par les dommages cellulaires et l'auto-oxydation des catécholamines engendrés par l'exercice entraîne une augmentation du stress oxydatif. Nous avons en effet observé pour l'ensemble des participants un stress oxydatif et nitrosatif accru à l'issue de l'exercice comparé à avant, par l'augmentation des produits d'oxydation protéique (AOPP) et de la nitrotyrosine, de l'HSP70 ainsi que l'activité accrue de MPO.

Concernant les défenses anti-oxydantes nous n'avons pas noté de différence liée à l'exercice. Pour l'ensemble des biomarqueurs mesurés nous n'avons pas noté de différence en lien avec la condition environnementale. On pourrait supposer que le maintien de l'équilibre hydrique et le niveau de condition physique favorable des participants aurait pu contribuer à cette réponse. De Melo-Marins (de Melo-Marins et al., 2021) a rapporté que la déshydratation au-delà de 3% de masse corporelle favorise un état pro-oxydant, cependant, en dessous les auteurs n'ont pas noté de différence lorsque l'exercice est effectué dans un environnement chaud comparativement à un environnement thermoneutre. Nous pensons que l'acclimatation et l'hydratation de nos participants ont pu pallier à l'hémoconcentration qui peut être causée par l'exercice et la déshydratation. Comme décrit en amont, nous n'avons pas noté de réduction de la déformabilité des GRs en lien avec l'environnement, de plus, la viscosité sanguine était diminuée lors de la récupération à 31 °C. De manière spéculative s'il y avait eu déshydratation la viscosité sanguine aurait été augmentée.

Particularités chez les PTDs

Les PTDs présentaient quelques particularités telles que l'augmentation des taux plasmatiques d'AOPP rapportés en pourcentage d'augmentation, autrement les valeurs absolues ont permis d'observer un effet d'interaction groupe x temps, traduisant des niveaux plus importants chez les PTDs comparé aux CTLs à l'issue de l'exercice, des résultats similaires ont été rapportés à l'issue de ce même type d'exercice (Faës et al., 2012).

En ce qui concerne les défenses anti-oxydantes intracellulaires, l'activité de la CAT était plus faible chez les PTDs comparé aux CTLs et la SOD avait tendance à être plus élevée chez eux ( $P = 0.079$ ). Ces données prises collectivement suggèrent un stress accru chez les PTDs comparativement aux CTLs. Ces résultats sont en accord avec la littérature actuelle concernant ces paramètres (Chirico et al., 2012, 2016; Das et al., 1993).

Il semble néanmoins que le stress oxydatif plus marqué chez les PTDs n'ait pas suffi à entraîner des perturbations d'ordres hémothéologiques, puisque nous n'avons pas noté de différences liées au statut hémoglobinémiq (hématocrite, déformabilité et agrégabilité).

Les différences fines observées telles que la viscosité sanguine et le stress oxydatif plus important chez les PTDs dans des conditions sécuritaires (maintien de l'hydratation, personnes saines, bonne condition physique, acclimatation) soutiennent l'idée que les PTDs ont un profil particulier. La perfusion cutanée améliorée en réponse à l'exercice pourrait traduire des potentielles adaptations, qui serviraient à maintenir un débit adéquat aux organes. Cela expliquerait probablement la raison pour laquelle le groupe PTDs n'a présenté aucun signe biologique ou clinique de lésion cardiaque ou musculaire.

Ces éléments ne doivent pas être sur-interprétés car les différences observées sont loin d'être suffisantes pour déclencher des événements vaso-occlusifs observables chez les homozygotes HbSS. On pourrait considérer que si le stress oxydatif aigu s'accroît avec des conditions particulières de déshydratation, d'exercice intense en environnement stressant, il pourrait être à l'origine de la réduction du NO et des altérations cellulaires (la rigidité des GRs) qui serait en mesure de déclencher la cascade d'événements vaso-occlusifs dont les PTDs sont parfois victimes.

## C. Régulation du métabolisme glucidique et ces effets sur la fonction microvasculaire

### **Effet de l'hyperglycémie aiguë post-prandiale sur la fonction microvasculaire chez les personnes acclimatées à hémoglobine normale**

*Nous avons montré (étude ancillaire) : (1) Chez les hommes la perfusion et la réactivité, considérés comme les reflets de la fonction microvasculaire était plus élevée en environnement chaud qu'en environnement neutre, à la fois dans les états pré et postprandiaux, avec des baisses similaires à l'état postprandial dans les deux environnements. (2) La prise alimentaire chez les femmes a affecté négativement la fonction microvasculaire, en environnement neutre mais pas en environnement chaud, la perfusion et les indices de réactivité sont restés inchangés après le repas par rapport à avant.*



### a) Profil général environnement thermoneutre

De manière générale, l'effet de l'hyperglycémie aiguë (HA) sur la fonction vasculaire a largement été étudié en ambiance thermoneutre. Aujourd'hui, le problème réside dans l'hétérogénéité des résultats (tableau annexe 6). Alors que certains comme nous rendent compte de la diminution de la perfusion sanguine après un repas (Harvey et al., 2016; Rossi et al., 1998), ou après un test oral de tolérance au glucose (OGTT) (De Marchi et al., 2012) en utilisant le LDF ou FMD (Loader et al., 2015). D'autres au contraire rapportent une augmentation après un repas (Eggleston et al., 2007; Mutter et al., 1992) ou après un OGTT (Iredahl et al., 2016; Russell et al., 2018) ou encore pas de changement après un repas (Fugmann et al., 2003). L'ensemble de ces données prouve bien que la diminution de la perfusion n'est pas une fin en soit, malgré les mécanismes explicités à ce sujet sur la réduction probable du NO (Ceriello et al., 2002 ; Mah et al., 2011).

L'une des hypothèses que nous avançons est basée sur l'hétérogénéité des méthodes et outils d'exploration vasculaire utilisés. Les techniques d'évaluation de la fonction et de la structure vasculaire constituent un panel relativement riche allant de la simple visualisation de la microvasculature à l'indice sur la perfusion tissulaire (Neubauer-Geryk, 2019a ; 2019b).

Ces techniques permettent d'explorer des territoires superficiels (LSCI) ou plus profonds (pléthysmographie). A ce propos, les auteurs ayant rapporté une augmentation du débit sanguin en réponse à HA ont utilisé pour la plupart la pléthysmographie (Eggleston et al., 2007; Muller et al., 1992) (tableau annexe 6), cette méthode est basée sur l'évaluation des volumes veineux et artériels (Cracowski & Roustit, 2020; Low et al., 2020). Cette technique a été principalement utilisée au niveau des avant-bras et des mollets, qui comprennent des muscles, des tissus mous et de la peau sans être spécifique à un territoire (Cooper et al., 1955). L'hétérogénéité des résultats est la preuve de l'adaptation différentielle propre au territoire vasculaire étudié, puisque l'ingestion d'une boisson ou d'un repas induit des changements métaboliques systémiques. Il n'est pas surprenant que les différentes techniques employées fournissent des résultats divergents qui reflètent une seule et même réalité (tableau annexe 6).

On considère généralement que la prise alimentaire coïncide avec une réduction de la perfusion dans les extrémités au profit des territoires splanchniques favorables à la digestion et du muscle pour le stockage des nutriments, une vasodilatation est observée dans ces territoires (Iwao et al., 1998; Matheson et al., 2000).

Ceci pourrait fournir une explication potentielle à nos résultats et à l'hétérogénéité des réponses, en dehors des différenciations méthodologiques (heure des mesures, type de repas, teneur en sucre et graisses). A ce propos, Silva et al (Silva et al., 2021) ont récemment rapporté ces conclusions, en comparant l'effet de l'hyperglycémie après OGTT sur la pulpe des doigts et la peau de l'avant-bras en utilisant le LDF. Ces auteurs ont également cherché à comprendre les mécanismes sous-jacents via l'analyse spectrale par ondelette de Morlet. Il semblerait que le contrôle sympathique différent d'un site cutané à un autre (velue vs glabre) soit responsable de l'hétérogénéité des réponses post-hyperglycémie aiguë. L'augmentation de l'insuline avec HA entraîne une sympatho-excitation en agissant sur l'hypothalamus (Muntzel et al., 1995), entraînant probablement la réduction du flux dans la peau glabre. D'autres études devraient faire la lumière sur les mécanismes sous-jacents pour comprendre dans quelle mesure la stimulation sympathique régule le tonus des artérioles dermiques, mais également le rôle de l'insuline en réponse à l'HA.

Il convient également d'élargir la connaissance en prenant en compte les fluctuations de la température environnementale. La plupart des études existantes sur les conséquences de l'hyperglycémie post-prandiale sur la fonction macro et microvasculaire n'a pas intégré cet aspect. La mesure de la fonction microvasculaire est souvent effectuée sur territoire cutanée, cette dernière pourrait refléter une tout autre réalité lorsque la température environnementale s'élève ou diminue.

#### *a) Caractérisation en environnement chaud*

Nous avons montré que la prise alimentaire chez les hommes affectait la perfusion et les indices de réactivité microvasculaire cutanée en environnement chaud. Ce qui est absent pour le groupe des femmes dans la même condition (nous aborderons dans une sous partie). A notre connaissance, une seule étude a examiné l'effet combiné de l'HA post-prandial et l'exposition environnementale à la chaleur, sur la fonction vasculaire (Harvey et al., 2016). Les auteurs ont conclu que la théromothérapie, où les participants étaient amenés à porter une combinaison perfusée d'eau à 50 °C, a permis de supprimer les effets d'un repas gras au niveau des extrémités mesuré via LDF (Harvey et al., 2016). Ces dernières années, les méthodes de théromothérapies ont reçu un intérêt grandissant, en raison de leur utilisation comme stratégies de prévention ou traitement du dysfonctionnement vasculaire (Brunt & Minson, 2021).

Ces méthodes consistent en l'exposition passive à la chaleur sous de multiples formes telles que : immersion en eaux chaudes, combinaison perfusée, chambre, sauna ; le but étant de créer un stress capable de stimuler les processus thermorégulateurs et provoquer des réajustements cardiovasculaires semblables à ceux observés durant l'activité physique.

Green et al (Green et al., 2010) ont rapporté que l'immersion d'un membre, durant 30 min trois fois par semaine pendant 8 semaines suffisait à améliorer la vasorelaxation de la zone régulièrement exposée. Ils ont démontré l'importance de l'augmentation des contraintes de cisaillement « antérogrades » liée au stress thermique pour qu'il y ait une amélioration de la vasorelaxation NO-dépendante, puisque le membre non exposé et bloqué par un brassard n'a subi aucune amélioration (Brunt et al., 2016).

Il convient de noter, que la plupart des protocoles de thérapie standardisés n'excèdent que rarement deux heures d'exposition. Les effets de ces thérapies sont potentialisés lorsque les individus retrouvent des conditions thermoneutres, Hoekstra et al (Hoekstra et al., 2018) ont rapporté que les taux de glucose et d'insuline à jeun étaient plus bas après 1h d'immersion dans l'eau 39 °C comparé à avant chez des personnes sédentaires. Cependant, cela n'explique pas les potentielles répercussions pour les individus vivant quotidiennement dans l'ambiance de ces thermo-thérapies.

Chez les personnes acclimatées à la chaleur à en croire nos résultats la glycémie à jeun plus élevée en environnement chaud ne semble pas impacté à première vue, négativement la fonction microvasculaire puisque nous avons observé une meilleure vasodilatation (pre-prandial 31 °C comparé à 21 °C), mais l'HA post-prandial est en mesure de diminuer la perfusion et la vasoréactivité dans ces mêmes conditions ce qui va à l'encontre de ce qu'Harvey rapporte. Nous supposons qu'une fois que les mécanismes liés à l'acclimatation sont en place les individus auraient une évolution typique de la perfusion cutanée de celles observée en environnement thermoneutre. L'une des explications les plus probables serait en lien avec la redistribution du débit sanguin vers les territoires splanchniques privilégiés au détriment de la peau glabre. Pour obtenir une autre réponse, il faudrait créer un stress supérieur à celui de l'environnement pour forcer l'organisme à s'adapter. Néanmoins, le manque de connaissance chez les personnes acclimatées et les effets de l'interaction environnement et HA ne permettent pas de savoir si ces thérapies seraient la solution pour tous.

L'hyperglycémie à jeun et en post-prandial devrait recevoir plus d'attention, les mécanismes sous-jacents devraient être élucidés davantage. Dans les modèles expérimentaux, l'épuisement rapide de la teneur en glycogène hépatique en réponse au stress thermique a été identifié comme une source d'augmentation périphérique du glucose (Kimball et al., 2018). Chez l'homme, l'étude de la cinétique des hormones et les biomarqueurs glycorégulateurs communs n'expliquent pas l'augmentation exagérée de la glycémie dans un environnement chaud (Antoine-Jonville et al., 2019).

### Particularité chez les femmes

La perfusion cutanée en postprandial chez les femmes (12 phases folliculaire/ 8 pas de phase précise identifiée) était inchangée comparativement au pré-prandial en environnement chaud alors qu'elle était diminuée en environnement neutre en post-prandial.

Ces réponses pourraient s'expliquer par le fait que les températures cutanées et corporelles étaient plus élevées en environnement chaud en post-prandial comparativement au pre-prandial, bien que n'ayons pas fait de comparaison entre les hommes et les femmes ces dernières avaient des valeurs de températures cutanées plus élevées globalement. Cela expliquerait probablement pourquoi la perfusion cutanée à 31 °C n'a pas subi de changement lié à l'HA post-prandiale.

Bien que les hommes et les femmes présentent des réponses thermo-physiologiques similaires, quelques spécificités ont été mises en évidence notamment en réponse à l'exercice en environnement chaud et à l'exposition passive à la chaleur (Gagnon et al., 2008; Gagnon & Crandall, 2018). En lien avec variations hormonales sur la température centrale et la vasodilatation cutanée (Charkoudian & Stachenfeld, 2014). Puisque les œstrogènes sont connues pour favoriser la vasodilatation en stimulant la production de NO comparativement à la progestérone qui a plutôt un effet vasoconstricteur en agissant sur les récepteurs alpha-adrénergiques (Baker et al., 2020 ; Charkoudian et al., 1999; Charkoudian & Stachenfeld, 2014). Ces femmes se retrouvaient pour la plupart en phase stable (folliculaire), et ne prenaient pas de contraceptifs oraux.

Les principales caractéristiques anthropométriques telles que la masse corporelle et la surface pourraient être la cause des distinctions du profil chez les femmes (Havenith et al., 1995). La masse corporelle est positivement liée à la capacité de stocker la chaleur et la quantité de surface corporelle exposée à l'environnement extérieur est également importante car elle détermine le taux d'échange de chaleur entre la peau et l'air ambiant.

Par conséquent, les personnes dont la masse corporelle (Havenith et al., 1995 ; Havenith et al., 1998) et la surface corporelle sont plus élevées présentent généralement une augmentation plus faible de la température centrale en cas de stress thermique.

En général, les femmes sont de plus petite taille, ont moins de masse maigre et un poids corporel plus faible que les hommes, et ont généralement un pourcentage plus élevé de graisse corporelle. Leur capacité à stocker la chaleur est favorisée par leur rapport surface corporelle/masse.

Les femmes présentent certaines particularités des mécanismes de transpiration liés entre autres à la moindre taille et réactivité des glandes sudoripares, malgré leur densité plus importante que celles des hommes (Gagnon & Kenny, 2012a, 2012b; Sato & Sato, 1983). Ainsi, cela suggère une moindre tolérance au stress thermique, cela est d'autant plus visible à l'exercice en ambiance chaude (Gagnon & Kenny, 2011). Chez les femmes, nous suggérons que l'évacuation de la chaleur via la perfusion cutanée pourrait être aussi important que de rediriger le flux sanguin vers les territoires splanchniques pour la digestion.

## **1. Métabolisme glucidique et fonction microvasculaire chez les PTDs**

### *a) Régulation glucidique à l'exercice et trait drépanocytaire*

L'augmentation observée de la glycémie, de la lactatémie et de la cortisolémie, à l'issue de l'exercice lors de nos expérimentations, est le reflet de l'adaptation de l'organisme pour répondre aux besoins pendant l'exercice. Une réponse hormonale coordonnée capable d'induire des changements cardio-métaboliques pour s'adapter à sa nouvelle situation. L'activation du système nerveux sympathique (axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien) stimule la libération des catécholamines et du cortisol en ce sens. Ainsi cela permet de stimuler la glycogénolyse et la néoglucogenèse dans le but de produire et de maintenir l'apport d'énergie sous forme d'ATP aux myocytes. L'augmentation de la glycémie, du cortisol et du lactate qui en résulte est un phénomène normalement attendu à plus forte raison lorsque l'intensité de l'exercice est élevée et/ou il se prolonge. En dépit de la variation normale de glycémie, les PTDs présentaient des valeurs significativement plus basses comparativement aux CTLs durant la période post-exercice.

Les tests post-hocs ont mis en évidence des profils différents penchant vers une diminution de la lactatémie beaucoup plus rapidement chez les PTDs. On constate qu'indépendamment des conditions environnementales, la lactatémie était diminuée à T110 comparé à T180, ce qui n'a pas été observé chez les CTLs malgré un niveau de condition physique et des performances similaires entre les participants.

Ces conclusions ont été rapportées par certains auteurs (Bile et al., 1998 ; Gozal et al., 1992 ; Sara et al., 2006) après un test d'effort incrémental maximal. Sara et al (Sara et al., 2006) ont suggéré une capacité de transport du lactate supérieure chez les PTDs. La lactatémie aurait pu contribuer à diminuer la glycémie de même pour les taux de cortisolémie qui étaient inférieurs chez les PTDs.

### Interprétation spéculative

Le cortisol et les neutrophiles étaient significativement inférieurs chez les PTDs comparativement aux CTLs en dépit d'une évolution plutôt conventionnelle, à savoir, une augmentation à l'issue de l'exercice. Bien que les post-hocs ont révélé une absence d'augmentation des neutrophiles dans les conditions les plus stressantes, lorsque l'exercice et la récupération étaient effectués à 31 °C (ECRC).

L'augmentation des catécholamines survient rapidement à l'exercice faisant augmenter le débit cardiaque par leur action chronotrope et inotrope sur le myocarde, elles permettent de stimuler les cellules immunopotentes et la démarginalisation des leucocytes, augmentant ainsi le taux de leucocytes circulants à l'exercice afin de pallier aux dommages musculaires liés à l'exercice entre autres (Cuisani et al. 1990 ; Jannsen et al. 1989 ; Lewicki et al. 1987 ; Ndon et al. 1992). Le cortisol détient également un rôle dans la migration des cellules immunitaires de la moelle osseuse vers la circulation. L'augmentation excessive des hormones de stress avec des intensités élevées d'exercice régule à la hausse les cytokines pro-inflammatoires ainsi que la migration des molécules d'adhérence (Shephard, 2003). L'installation d'un état pro-inflammatoire/pro coagulant serait favorable à la stase vasculaire et au risque de thrombose élevée. En particulier, les molécules d'adhérence intracellulaire-1 (ICAM-1), vasculaire-1 (VCAM-1) et la sélectine E sont considérées comme les molécules clés responsables de la transmigration des leucocytes dans l'intima vasculaire, qui à son tour déclenche le processus inflammatoire (Demerath et al., 2001). L'augmentation de ces molécules est impliquée dans le phénomène de vaso-occlusion chez les patients drépanocytaires.

Chez les PTDs en réponse à l'exercice de nombreux rapports de cas de morts subites ont mis en évidence une coagulation intravasculaire disséminée.

Des études antérieures quelque peu controversées, ont rapporté une tendance accrue de sécrétion de VCAM (Monchanin et al., 2008) Monchanin et al, 2008 ou de P-selectine (Tripette et al., 2010) en réponse à l'exercice, qui tend à diminuer avec l'entraînement physique (Aufradet et al., 2010). Cependant, dans aucune de ces études, les hormones régulatrices (catécholamines, cortisol, CRH) capables de stimuler la sécrétion de ces molécules n'a été dosée. Contrairement à notre étude où le taux de cortisol a été dosé mais pas les molécules d'adhérence, limitant l'interprétation.

Néanmoins les niveaux significativement plus faibles de cortisol et de neutrophiles et la tendance des plaquettes à être plus faible chez les PTDs (0.070) pourraient être le témoin d'un équilibre des processus inflammatoires. En effet, il a été rapporté que des niveaux plus faibles de cortisol sont associés à l'inhibition des ICAM-1s en désactivant le gène ICAM-1 via les récepteurs des glucocorticoïdes et peut également diminuer la transcription du gène inflammatoire. A l'inverse, des niveaux plus élevés liés à l'exercice de haute intensité contribuent à la stimulation des ICAMs et des VCAMs ce qui a été rapporté par Park et al (J. Park et al., 2018). De la même manière l'augmentation des taux de cellules immunitaires (neutrophiles) et leur activation pourrait augmenter la production des radicaux libres à l'exercice liée à leur activité phagocytaire. L'accumulation des radicaux libres dans le cas des PTDs favoriserait la fragilité des GRs et leur destruction. Cela participerait également au piégeage du NO semblable au processus physiopathologique de la drépanocytose (Chirico et al., 2016 ; Hierso et al., 2014). Réduisant ainsi la capacité des vaisseaux à assurer leur fonction, en réduisant la biodisponibilité du NO.

Nous suggérons que les résultats observés chez les PTDs (cortisol, neutrophiles et plaquettes plus faibles et une meilleure vasorelaxation à l'exercice) convergent toutes vers un profil spécifique adapté à l'exercice de haute intensité et aux phénomènes ischémiques probables.

Bien que les liens directs n'aient pas été mis en évidence par nos résultats puisque aucun lien corrélatif pertinent n'a été trouvé entre les éléments (taux ou % d'augmentation des neutrophiles, leucocytes, MPO et cortisol) et la perfusion. Ces éléments corroborent les observations rapportées chez les PTDs montrant que l'adaptation à l'entraînement avec une diminution du stress oxydatif (Chirico et al., 2012b), de certaines molécules d'adhérence (VCAMs) (Aufradet et al., 2010) et qui est également à l'origine des changements structurels vasculaires (Vincent et al., 2012).

*CONCLUSION*

*&*

*PERSPECTIVES*



## **Conclusion**

Ce travail de thèse a permis de caractériser certaines spécificités de la fonction microvasculaire cutanée à la fois chez les personnes jeunes actives acclimatées à hémoglobine normale (HbAA) et les porteurs du trait drépanocytaire (HbAS). Nous avons apporté des précisions sur l'évolution de la perfusion cutanée en réponse à la prise alimentaire, à l'exercice physique combiné ou non à un environnement chaud.

**Dans l'étude ancillaire** nous avons montré que même en environnement chaud la perfusion et l'hyperhémie thermique cutanée diminuait au niveau des extrémités avec la prise alimentaire chez les hommes sains. Chez les femmes aucun changement de ces indices n'a été observé dans les mêmes conditions, suggérant que le maintien d'une perfusion cutanée est tout aussi prioritaire que la digestion, certainement à des fins de thermorégulation.

**Dans l'étude TDEx** nous avons confirmé le caractère particulier que confère le trait drépanocytaire en réponse à l'exercice physique de haute intensité, bien qu'aucun signe de défaillance musculaire ou cardiaque n'ait été mis en évidence après analyse de certains biomarqueurs.

La fonction microvasculaire (perfusion et hyperhémie thermique) était préservée au repos chez PTDs mais accentuée comparé aux CTLs dans les conditions les plus stressantes (exercice en environnement chaud). Nous avons confirmé que ces derniers présentaient un stress oxydatif accru observable par un taux élevé d'oxydation protéique et une activité anti-oxydante enzymatique intracellulaire plus faible, en accord avec Faes et al (Faes et al., 2012) et Das et al (Das et al.,1993). Néanmoins, il semble que cela n'ait pas suffi pour induire des altérations hémorhéologiques chez ces derniers, puisqu'aucune différence n'a été observée entre les PTDs et leurs homologues CTLs. Il convient de noter, que les PTDs comparés aux CTLs présentaient une viscosité sanguine accrue malgré des conditions d'hydratation optimum, et une hypocortisolémie a été mise en évidence pour la première fois, cependant les phénomènes explicatifs n'ont pas été étudiés ici. Leur lien avec une perfusion microvasculaire retrouvée accentuée devrait être éclaircie.

Les conclusions de ce travail sont en cohésion avec l'hypothèse selon laquelle les PTDs présentent un profil particulier en réponse à l'exercice.

Cependant, au regard des éléments étudiés dans notre protocole et des données disponibles dans la littérature nous ne sommes pas en mesure d'expliquer les mécanismes sous-jacents. Dans le but d'éclaircir ces mécanismes nous avons entrepris une collaboration avec le laboratoire d'Avignon Pharma Ecologie cardiovasculaire sur modèle animal (perspectives amorcées).

## *Perspectives*

### La caractérisation de la fonction vasculaire n'en est qu'à ses prémices, son rôle dans la cascade d'événements aboutissant à la mort subite chez les PTDs est loin d'être élucidé

- *Perspectives amorcées*

A l'heure actuelle, la physiopathologie des CVOs chez les patients drépanocytaires (homozygotes HbSS) est pour des raisons évidentes mieux documentée, les facteurs et les mécanismes identifiés ont permis une meilleure compréhension.

Ces derniers ont également servi à éclairer la physiopathogénèse des morts subites chez les PTDs. A ce titre, depuis peu les vésicules extracellulaires (VE) et leur implication dans les CVOs ont reçu un grand intérêt. Les VE et plus particulièrement les microparticules (MPs) sont cruciales à la communication cellulaire tant dans les états physiologiques que pathologiques, elles possèdent des rôles clés dans certains processus cellulaires tels que : l'angiogenèse, l'inflammation, l'activation endothéliale et plaquettaire. Leur rôle dépendra de leur cellule d'origine et de leur concentration (Leite et al., 2020). Dans la drépanocytose, la gravité clinique a été liée aux taux plasmatiques mesurés à l'état d'équilibre (en dehors des CVOs), des taux importants lors des CVOs ont été observés (Nader et al., 2021 ; Romana et al., 2018). De plus, en dehors de la drépanocytose, leur implication dans l'altération endothéliale, par la diminution de la biodisponibilité du NO a également été rapportée. Les MPs issue des CE pourraient constituer un biomarqueur plus stable que les taux plasmatiques de NO, car leur fluctuation à l'état physiologique est plus stable (Song et al., 2015). Plus que de simples débris, ces bioeffecteurs sont en mesure de transmettre des ARNs provenant de leur cellule d'origine, capables de stimuler certaines protéines pro-inflammatoires, même chez les personnes saines (Kouwaki et al., 2017). Récemment Skinner et al (Skinner et al., 2020) ont rapporté une tendance d'augmentation des concentrations de MPs issue de cellules endothéliales et érythrocytaire en réponse à l'exercice, chez les PTDs comparativement aux non porteurs.

Cependant, ces auteurs n'ont pas identifié les rôles potentiels de ces MPs sur la capacité de vasodilatation.

C'est naturellement dans cette logique que nous avons cherché à comprendre quel serait le rôle de ces bioeffecteurs sur la fonction microvasculaire chez les PTDs en réponse à l'exercice. Nous avons entrepris une collaboration dans ce sens pour tenter de répondre à cette question.

### Matériels et méthodes (protocole en cours)

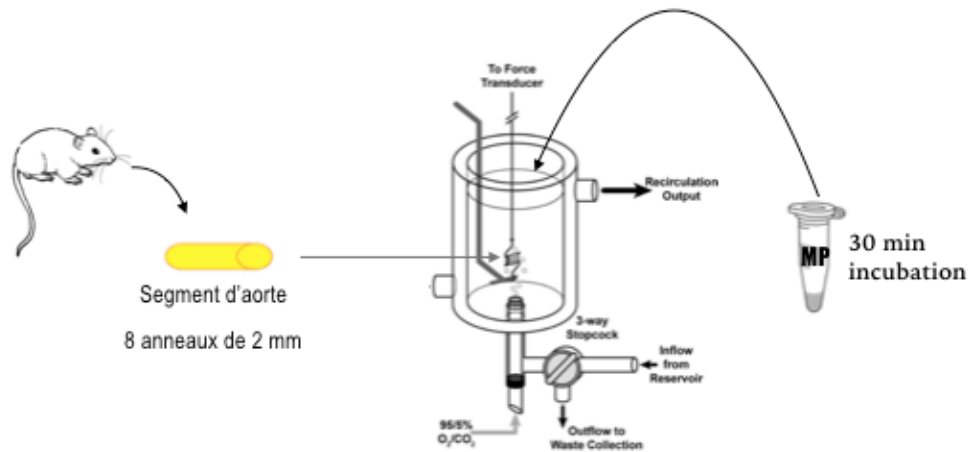
#### **Quantification des MPs**

L'extraction des MPs plasmatique a été effectuée à partir des échantillons prélevés chez les 20 participants de l'étude TDEx (9 PTDs, 11CTLs). Puis elles ont été quantifiées par cytomètre en flux (cytoFLEX, Beckman Coulter). L'analyse par cytométrie se fait à partir des culots de MPs récupérés après extraction. Ces MPs ont été resuspendues dans une solution saline (PBS), et leur analyse s'est faite en fonction de la granulométrie et de la taille préalablement standardisée par des billes de tailles connues détectées par le cytomètre.

#### ***Étude de l'effet des MPs (toutes origines confondues) sur la vasoréactivité d'anneaux d'aorte de rats (figure 48).***

Pour réaliser cette expérimentation nous avons préalablement prélevé des aortes issues de rats Wistar qui ont été nettoyées et découpées en tronçons de 2 à 3 mm de largeur. Puis chaque anneau a été placé dans une chambre d'organe isolée (cuves) tendue entre deux crochets. Les anneaux étaient incubés dans une solution physiologique : Krebs-Hepes (NaCl 117mM, KCl 74.5mM, NaHCO<sub>3</sub> 84mM, H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.5mM, MgCl<sub>2</sub> 1.7mM, Hepes 21mM, Glucose 11.1mM) et contenant ou non des MPs issue des CTLs ou des PTDs.

Les capacités vasodilatatrices de chaque anneau sont étudiées, après contraction préalable à la phényléphrine (PE) (agoniste alpha 1 adrénergique de la cellule musculaire), à l'aide de doses de concentrations croissantes d'ACh ( $3 \cdot 10^{-9}$  à  $10^{-4}$  M) et de nitropusside de sodium (SNP,  $10^{-5}$  M).



**Figure 48** Chambre d'organe isolé

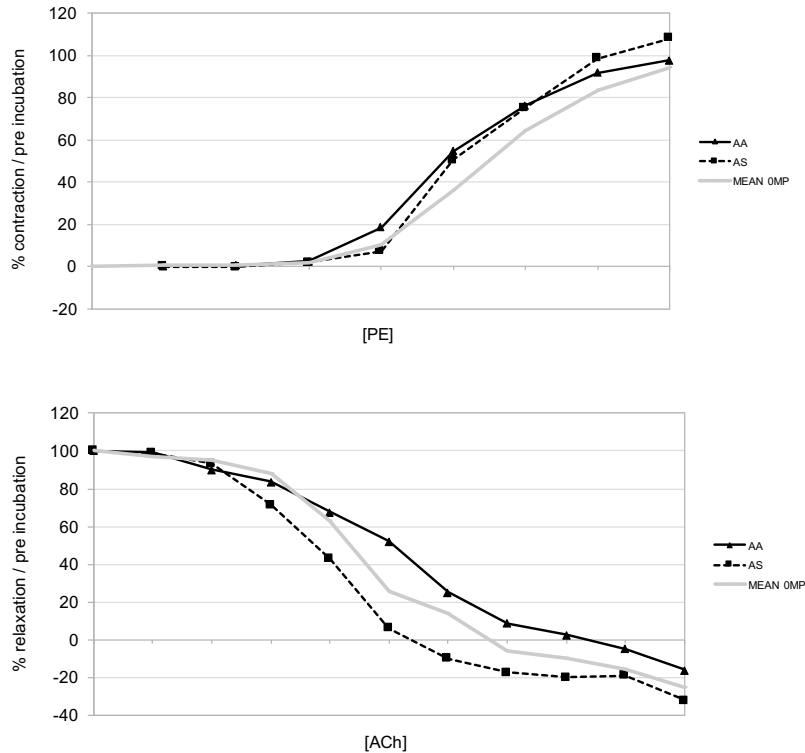
### Résultats préliminaires

#### *Le dosage des taux circulants de MPs et leur origine*

Le dosage des MPs et leur phénotypage n'a malheureusement pas abouti à des conclusions pertinentes, car de nombreux échantillons ont été perdus. Plusieurs tubes n'ont pas pu être analysés pour cause d'hémolyse importante. Les analyses des échantillons restants n'ont pas mis en évidence de profil particulier chez les PTDs comparés aux CTLs.

#### *Vasoréactivité : action des MPs*

Pour la seconde partie du protocole, ces expérimentations sont actuellement en cours de réalisation au laboratoire d'Avignon. Les résultats obtenus à ce jour s'orientent dans le sens d'une augmentation de la vasorelaxation chez les PTDs.



- ***Pistes de travail potentielles***

Suite de l'étude TDEx : Chez les porteurs du trait drépanocytaire

- ***Dans un premier temps***, il serait pertinent d'investiguer d'autres réseaux microvasculaires pour savoir si l'augmentation de la perfusion est systémique (musculaire autre zones cutanée). Les modifications structurelles ont été observées au niveau du réseau microvasculaire musculaire, il serait logique de savoir si la perfusion dans ces réseaux est également modifiée chez les PTDs comparés aux CTLs sédentaires et/ou actifs.
- D'autres territoires cutanés non glabres devraient être investigués pour confirmer s'ils préservent des réponses thermorégulatrices semblables aux CTLs (vasodilatation active). Pour finir, utilisation des dispositifs actuels qui évaluent à la fois la saturation en oxygène en même temps que la variation du flux sanguin serait pertinente pour affirmer l'hypothèse selon laquelle les adaptations de la fonction microvasculaire aurait pu conduire aux changements structurels.

Afin de confirmer les hypothèses selon lesquelles l'augmentation du calibre des capillaires des fibres musculaires s'opère pour une meilleure perfusion tissulaire, il serait judicieux d'étudier cette question en utilisant un dispositif capable de quantifier l'oxygénation tissulaire en même temps que la variation du flux sanguin.

- **Dans un second temps**, il paraît pertinent d'éclairer les mécanismes sous-jacents l'augmentation de la perfusion observée chez les PTDs. Nous avons montré que les deux voies (nerveuses et métaboliques) étaient préservées. Les taux de NO plasmatiques étaient similaires à ceux des CTLs et l'analyse du vasomotion n'a pas non plus mis en évidence de troubles particuliers. Pourtant au regard de la perfusion les différences apparaissent, de plus, Skinner et al ont également rapporté une vasorelaxation accentuée en réponse à l'Ach et au SNP chez les souris HbAS. Une première proposition serait de bloquer les voies liées à la réponse biphasique du chauffage local pour tenter d'observer des voies compensatrices si toutefois elles existent.
- Et enfin il serait également intéressant de comprendre dans quelle mesure la stimulation de l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien serait impliquée dans l'hypocortisolémie observée chez les PTDs et leurs liens potentiels dans la réponse inflammatoire (stimulation des cytokines pro-inflammatoires et molécules d'adhérence et l'activation des cellules immunitaires et endothéliales), en prélevant dans un premier temps les hormones de stress et les molécules d'adhérence comme certains ont pu le faire auparavant avant et après un exercice.

### Suite de l'étude ancillaire : personnes à hémoglobine normale

Une première perspective de l'étude ancillaire serait de poursuivre l'exploration des données de la fonction microvasculaire en environnement chaud en réponse à hyperglycémie aiguë et chronique. Afin de caractériser les variations de cette dernière sur via plusieurs territoires en comparaison avec les données déjà disponibles en ambiance thermo-neutre.

De plus comme Silva et al (Silva et al., 2021) l'exploitation de nos données via l'analyse spectrale par ondelette de Morlet offrirait une première réponse sur les mécanismes éventuels impliqués dans la réponse différentielle entre les hommes et les femmes.

L'état actuel des connaissances penche vers une utilisation de la thérapie comme moyen alternatif de l'exercice pour améliorer la régulation de la glycémie et la fonction endothéliale (Brunt, Howard, et al., 2016 ; Brunt & Minson, 2021). Néanmoins plusieurs interrogations existent encore notamment pour les personnes vivant quotidiennement dans des environnements thermiquement stressants.

Au bout d'un certain temps est-ce que les adaptations positives liées à l'exposition à un environnement chaud (biodisponibilité du NO, réactivité des processus thermogéniques) compense l'hyperglycémie constante (à jeun et post-prandial) et finalement finirait par induire des réactions semblables à celle observées en ambiance thermiquement neutre. Dans ce cas précis existe-t-il un plafonnement chez les personnes saines ou le stress habituel de l'environnement chaud n'induirait plus d'adaptations vasculaires positives. Nous avons des raisons d'y croire puisque nous n'avons pas observé de perturbation de la fonction microvasculaire liée à l'hyperglycémie à jeun mais l'hyperglycémie post-prandiale oui suggérant que ça soit pas une altération mais un effet lié à l'implication d'une prise alimentaire qui nécessite la redistribution du flux sanguin vers les territoires splanchniques.

*PUBLICATIONS*

*&*

*COMMUNICATIONS*



## *Publications dans des revues scientifiques concernant les travaux de thèse*

---

**Reminy K.**, Hue O., Antoine-Jonville S., (2020).

**Effect of warm environment on the skin blood flow response to food intake.** International Journal of Hyperthermia, 37:1, 836-842, (IF : 3.754)

**Reminy K.**, Ngo Sock ET., Romana M., Connes P., Ravion S, Henri S., Hue O., Hardy-Dessources MD., Antoine-Jonville S. (2021)

**Strenuous exercise in warm environment is associated with improved microvascular function in sickle cell trait carriers. A randomized trial**  
Eur J Appl Physiol, (IF : 3.078)

## *Publications dans des revues scientifiques hors travaux de thèse*

---

Romana M., **Karen Reminy.**, Moeckesch B., Charlot K., Hardy-Dessources MD., Doumdo L., Tressieres B., Etienne-Julan M., Lemonne N., Denton C., Coates T., Petras M., Antoine-Jonville S., Connes P., (2021)

**Loss of alpha globin genes is associated with improved microvascular function in patients with sickle cell anemia.**  
Am J Hematol, (IF : 10.047).

Connes P., Moeckesch B., Ngo Sock ET., Hardy-Dessources MD., **Reminy K.**, Skinner S., Billaud M., Nader E., Tressieres B., Etienne-Julan M., Guillot N., Lemonne N., Hue O., Romana M., Antoine-Jonville S., (2021)

**Oxidative stress, inflammation, blood rheology, and microcirculation in adults with sickle cell disease: Effects of hydroxyurea treatment and impact of sickle cell syndrome.**  
Eur J Haematol. 2021; 106 :800–807. (IF : 2.997).

## **Communications orales**

---

*Aout 2021*- Présentation orale : The Caribbean Academy of Sciences in collaboration with the University of Guyana 22nd Biennial Virtual Conference

### **Microvascular function in sickle cell trait carriers under strenuous exercise conditions**

**K. Reminy**<sup>1</sup>, ET. Ngo Sock<sup>1</sup>, MR. Romana<sup>2,4</sup>, P. Connes<sup>3,4</sup>, S. Ravion<sup>2</sup>, S. Henri<sup>1</sup>, O. Hue<sup>1</sup>, MD. Hardy-Dessources<sup>2,4</sup>, S. Antoine-Jonville<sup>1,5</sup>

*Décembre 2018*- Présentation orale : Journée d'échanges scientifiques

### **Effet du climat tropical et de l'exercice sur la fonction microvasculaire chez des sujets sains**

**K. Reminy**<sup>1</sup>; E.T. Ngo Sock<sup>1</sup>; M-D. Hardy-Dessources<sup>2</sup>; C. Chabert<sup>1</sup>; M. Romana<sup>2</sup>; Y. Garnier<sup>2</sup>; P. Chérubin<sup>1</sup>; N. Benoist<sup>1</sup>; S. Henri<sup>1</sup>; O. Hue<sup>1</sup>; S. Antoine-Jonville<sup>1</sup>

## **Communications par posters**

---

*Avril 2021*- e-Poster commenté : e-congrès ESC Preventive cardiology 2021

### **Response to microvascular reactivity after intensive exercise in a warm environment in sickle cell trait carriers**

**K. Reminy**<sup>1</sup>, ET. Ngo Sock<sup>1</sup>, MR. Romana<sup>2,4</sup>, P. Connes<sup>3,4</sup>, S. Ravion<sup>2</sup>, S. Henri<sup>1</sup>, O. Hue<sup>1</sup>, MD. Hardy-Dessources<sup>2,4</sup>, S. Antoine-Jonville<sup>1,5</sup>

### **Would the (too?) Normal adaptation to exercise in sickle cell trait carriers be a reflection of preventive mechanisms against potential myocardial and muscle injury?**

S. Antoine-Jonville, **K. Reminy**, ET. Ngo Sock, P. Chérubin, O. Hue, S. Henri

*Octobre 2019* - Poster commenté : Caribbean Science & Innovation Meeting

### **Effect of warm environment on the skin blood flow response to food intake**

**Reminy K.1**, Compper L.1, Hue O. <sup>1</sup>, Antoine-Jonville S.1

## ~A~

- Abularrage, C. J., Sidawy, A. N., Aidinian, G., Singh, N., Weiswasser, J. M., & Arora, S. (2005). Evaluation of the microcirculation in vascular disease. *Journal of Vascular Surgery*, 42(3), 574-581.
- Adamopoulos, S., Parissis, J., Kroupis, C., Georgiadis, M., Karatzas, D., Karavolias, G., Koniavitou, K., Coats, A. J., & Kremastinos, D. T. (2001). Physical training reduces peripheral markers of inflammation in patients with chronic heart failure. *European Heart Journal*, 22(9), 791-797.
- Aidoo, M., Terlouw, D. J., Kolczak, M. S., McElroy, P. D., ter Kuile, F. O., Kariuki, S., Nahlen, B. L., Lal, A. A., & Udhayakumar, V. (2002). Protective effects of the sickle cell gene against malaria morbidity and mortality. *Lancet (London, England)*, 359(9314), 1311-1312.
- Ajayi, A. A., & Kolawole, B. A. (2004). Sickle cell trait and gender influence type 2 diabetic complications in African patients. *European Journal of Internal Medicine*, 15(5), 312-315.
- Alayash, A. I. (2018a). Oxidative pathways in the sickle cell and beyond. *Blood Cells, Molecules & Diseases*, 70, 78-86.
- Alessio, H. M., Hagerman, A. E., Fulkerson, B. K., Ambrose, J., Rice, R. E., & Wiley, R. L. (2000). Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 32(9), 1576-1581.
- Allison, A. C. (1954). Protection afforded by sickle-cell trait against subtertian malarial infection. *British Medical Journal*, 1(4857), 290-294.
- Ambrus, J. L., Bannerman, R. M., Sills, R. H., Meko, N., Sharma, S., Stadler, S., Gastpar, H., Marton, J., & Melewska, D. J. (1987). Studies on the vasoocclusive crisis of sickle cell disease. III. In vitro and in vivo effect of the pyrimido-pyrimidine derivative, RA-233: studies on its mechanism of action. *Journal of Medicine*, 18(3-4), 165-198.
- Amin, C., Adam, S., Mooberry, M. J., Kutlar, A., Kutlar, F., Esserman, D., Brittain, J. E., Ataga, K. I., Chang, J.-Y., Wolberg, A. S., & Key, N. S. (2015). Coagulation activation in sickle cell trait: an exploratory study. *British journal of haematology*, 171(4), 638-646.
- Amin, S. B., Hansen, A. B., Mugele, H., Willmer, F., Gross, F., Reimeir, B., Cornwell, W. K., Simpson, L. L., Moore, J. P., Romero, S. A., & Lawley, J. S. (2021). Whole body passive heating versus dynamic lower body exercise: A comparison of peripheral hemodynamic profiles. *Journal of Applied Physiology*, 130(1), 160-171
- Anderson, S. (2017). NCAA Football Off-Season Training: Unanswered Prayers... A Prayer Answered. *Journal of Athletic Training*, 52(2), 145-148.
- Antoine-Jonville, S., El Khoury, D., Faure, C., Charlot, K., Hue, O., & Hardy-Dessources, M.-D. (2019). Metabolic response to oral glucose tolerance test performed in neutral and warm environmental temperature. *International Journal of Hyperthermia: The Official Journal of European Society for Hyperthermic Oncology, North American Hyperthermia Group*, 36(1), 625-631.
- Anzalone, M. L., Green, V. S., Buja, M., Sanchez, L. A., Harrykisson, R. I., & Eichner, E. R. (2010a). Sickle cell trait and fatal rhabdomyolysis in football training: a case study. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 42(1), 3-7.

Arber, N., Berliner, S., Rotenberg, Z., Friedman, J., Belagodatni, E., Ostfeld, I., Aronson, M., & Pinkhas, J. (1991). Detection of aggregated leukocytes in the circulating pool during stress-demargination is not necessarily a result of decreased leukocyte adhesiveness. *Acta Haematologica*, 86(1), 20-24.

Ashcroft, M. T., & Desai, P. (1976). Mortality and morbidity in jamaican adults with sickle-cell trait and with normal hæmoglobin followed up for twelve years. *The Lancet*, 308(7989), 784-786.

Asplund, C. A., & O'Connor, F. G. (2016). Challenging Return to Play Decisions: Heat Stroke, Exertional Rhabdomyolysis, and Exertional Collapse Associated With Sickle Cell Trait. *Sports Health*, 8(2), 117-125.

Aufradet, E., Monchanin, G., Oyonno-Engelle, S., Feasson, L., Messonnier, L., Francina, A., Bezin, L., Serpero, L. D., Gozal, D., Dodogba, M., Wouassi, D., Banimbeck, V., Djoda, B., Thiriet, P., & Martin, C. (2010a). Habitual Physical Activity and Endothelial Activation in Sickle Cell Trait Carriers. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 42(11), 1987-1994.

Aufradet, E., Monchanin, G., Oyonno-Engelle, S., Feasson, L., Messonnier, L., Francina, A., Bezin, L., Serpero, L. D., Gozal, D., Dodogba, M., Wouassi, D., Banimbeck, V., Djoda, B., Thiriet, P., & Martin, C. (2010b). Habitual Physical Activity and Endothelial Activation in Sickle Cell Trait Carriers. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 42(11), 1987-1994.

Austin, H., Key, N. S., Benson, J. M., Lally, C., Dowling, N. F., Whitsett, C., & Hooper, W. C. (2007). Sickle cell trait and the risk of venous thromboembolism among blacks. *Blood*, 110(3), 908-912.

### ~B~

Baker, F. C., Sibozza, F., & Fuller, A. (2020). Temperature regulation in women: Effects of the menstrual cycle. *Temperature*, 7(3), 226-262.

Barcroft, H., & Edholm, O. G. (1943). The effect of temperature on blood flow and deep temperature in the human forearm. *The Journal of Physiology*, 102(1), 5-20.

Bartzeliotou, A. I., Margeli, A. P., Tsironi, M., Skenderi, K., Bacoula, C., Chrousos, G. P., & Papassotiriou, I. (2007). Circulating levels of adhesion molecules and markers of endothelial activation in acute inflammation induced by prolonged brisk exercise. *Clinical Biochemistry*, 40(11), 765-770.

Baskurt, O., Boynard, M., Cokelet, G., Connes, P., Cooke, B. M., Forconi, S., Liao, F., Hardeman, M., Jung, F., Meiselman, H., Nash, G., Nemeth, N., Neu, B., Sandhagen, B., Shin, S., Thurston, G., & Wautier, J. L. (2009). New guidelines for hemorheological laboratory techniques. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 42(2), 75-97.

Baskurt, O. K., & Meiselman, H. J. (2003). Blood rheology and hemodynamics. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 29(5), 435-450.

Baskurt, O. K., Ph.D, M. R. H., & Ph.D, M. W. R. (2007). *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*.

Belcher, J. D., Chen, C., Nguyen, J., Zhang, P., Abdulla, F., Nguyen, P., Killeen, T., Xu, P., O'Sullivan, G., Nath, K. A., & Vercellotti, G. M. (2017). Control of Oxidative Stress and Inflammation in Sickle Cell Disease with the Nrf2 Activator Dimethyl Fumarate. *Antioxidants & Redox Signaling*, 26(14), 748-762.

Bello, N. A., Hyacinth, H. I., Roetker, N. S., Seals, S. R., Naik, R. P., Derebail, V. K., Kshirsagar, A. V., Key, N. S., Wilson, J. G., Correa, A., Adams, R. J., Egede, L. D., Longstreth, W. T., Choudhary, G., Gee, B. E., Hughes, A. L., Shah, A. M., Manson, J. E., Allison, M., ... Konety, S. H. (2017). Sickle cell trait is not associated with an increased risk of heart failure or abnormalities of cardiac structure and function. *Blood*, 129(6), 799-801.

Beltan, E., Chalabi, T., Tripette, J., Chout, R., & Connes, P. (2011). Coagulation responses after a submaximal exercise in sickle cell trait carriers. *Thrombosis Research*, 127(2), 167-169.

- Bergeron, M. F., Cannon, J. G., Hall, E. L., & Kutlar, A. (2004). Erythrocyte sickling during exercise and thermal stress. *Clinical Journal of Sport Medicine: Official Journal of the Canadian Academy of Sport Medicine*, 14(6), 354-356.
- Berzosa, C., Cebrián, I., Fuentes-Broto, L., Gómez-Trullén, E., Piedrafita, E., Martínez-Ballarín, E., López-Pingarrón, L., Reiter, R. J., & García, J. J. (2011). Acute Exercise Increases Plasma Total Antioxidant Status and Antioxidant Enzyme Activities in Untrained Men. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2011,
- Bile, A., Le Gallais, D., Mercier, B., Martinez, P., Ahmaidi, S., Prefaut, C., & Mercier, J. (1998). Blood lactate concentrations during incremental exercise in subjects with sickle cell trait. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 30(5), 649-654.
- Bilé, A., Le Gallais, D., Mercier, J., Bogui, P., & Préfaut, C. (1998). Sickle cell trait in Ivory Coast athletic throw and jump champions, 1956-1995. *International Journal of Sports Medicine*, 19(3), 215-219.
- Boden, B. P., Fine, K. M., Spencer, T. A., Breit, I., & Anderson, S. A. (2020). Nontraumatic Exertional Fatalities in Football Players, Part 2: Excess in Conditioning Kills. *Orthopaedic Journal of Sports Medicine*, 8(8), 2325967120943491.
- Boo, Y. C., Sorescu, G., Boyd, N., Shiojima, I., Walsh, K., Du, J., & Jo, H. (2002). Shear stress stimulates phosphorylation of endothelial nitric-oxide synthase at Ser1179 by Akt-independent mechanisms: role of protein kinase A. *The Journal of Biological Chemistry*, 277(5), 3388-3396.
- Bookchin, R. M., Balazs, T., & Landau, L. C. (1976). Determinants of red cell sickling. Effects of varying pH and of increasing intracellular hemoglobin concentration by osmotic shrinkage. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 87(4), 597-616.
- Boulanger, C. M., Amabile, N., & Tedgui, A. (2006). Circulating microparticles: a potential prognostic marker for atherosclerotic vascular disease. *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 48(2), 180-186.
- Boutouyrie, P., Chowienzyk, P., Humphrey, J. D., & Mitchell, G. F. (2021). Arterial Stiffness and Cardiovascular Risk in Hypertension. *Circulation Research*.
- Brancaccio, P., Maffulli, N., & Limongelli, F. M. (2007). Creatine kinase monitoring in sport medicine. *British Medical Bulletin*, 81-82, 209-230.
- Brandão, M. M., Fontes, A., Barjas-Castro, M. L., Barbosa, L. C., Costa, F. F., Cesar, C. L., & Saad, S. T. O. (2003). Optical tweezers for measuring red blood cell elasticity: application to the study of drug response in sickle cell disease. *European Journal of Haematology*, 70(4), 207-211.
- Braverman, I. M. (1997). The Cutaneous Microcirculation: Ultrastructure and Microanatomical Organization. *Microcirculation*, 4(3), 329-340. <https://doi.org/10.3109/10739689709146797>
- Braverman, I. M. (2000). The Cutaneous Microcirculation. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*, 5(1), 3-9.
- Briers, J. D. (2001). Laser Doppler, speckle and related techniques for blood perfusion mapping and imaging. *Physiological Measurement*, 22(4), R35-66.
- Brothers, R. M., Bhella, P. S., Shibata, S., Wingo, J. E., Levine, B. D., & Crandall, C. G. (2009). Cardiac systolic and diastolic function during whole body heat stress. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 296(4), H1150-1156.
- Brun, J. F., Khaled, S., Raynaud, E., Bouix, D., Micallef, J. P., & Orsetti, A. (1998). The triphasic effects of exercise on blood rheology: which relevance to physiology and pathophysiology? *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 19(2), 89-104.

Brun, J.-F., Varlet-Marie, E., Connes, P., & Aloulou, I. (2010). Hemorheological alterations related to training and overtraining. *Biorheology*, 47(2), 95-115.

Brunt, V. E., Eymann, T. M., Francisco, M. A., Howard, M. J., & Minson, C. T. (2016). Passive heat therapy improves cutaneous microvascular function in sedentary humans via improved nitric oxide-dependent dilation. *Journal of Applied Physiology*, 121(3), 716-723.

Brunt, V. E., Howard, M. J., Francisco, M. A., Ely, B. R., & Minson, C. T. (2016). Passive heat therapy improves endothelial function, arterial stiffness and blood pressure in sedentary humans. *The Journal of Physiology*, 594(18), 5329-5342.

Brunt, V. E., & Minson, C. T. (2012a). KCa channels and epoxyeicosatrienoic acids: major contributors to thermal hyperaemia in human skin. *The Journal of Physiology*, 590(Pt 15), 3523-3534.

Brunt, V. E., & Minson, C. T. (2021a). Heat therapy: mechanistic underpinnings and applications to cardiovascular health. *Journal of Applied Physiology*, 130(6), 1684-1704.

Buchanan, B. K., Siebert, D. M., Suchsland, M. L. Z., Drezner, J. A., Asif, I. M., O'Connor, F. G., & Harmon, K. G. (2020). Sudden Death Associated With Sickle Cell Trait Before and After Mandatory Screening: Sports Health.

Buono, M. J., Ball, K. D., & Kolkhorst, F. W. (2007). Sodium ion concentration vs. sweat rate relationship in humans. *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md.: 1985), 103(3), 990-994.

Buono, M. J., Kolding, M., Leslie, E., Moreno, D., Norwood, S., Ordille, A., & Weller, R. (2018). Heat acclimation causes a linear decrease in sweat sodium ion concentration. *Journal of Thermal Biology*, 71, 237-240.

Bura-Rivière Alessandra, Mahé Guillaume, Société française de médecine vasculaire, Collège des enseignants de médecine vasculaire, & Collège français de pathologie vasculaire. (2016). *Maladies artérielles / [sous l'égide de] Société française de médecine vasculaire, Collège des enseignants de médecine vasculaire, Collège français de pathologie vasculaire ; coordonné par Alessandra Bura-Rivière, Guillaume Mahé. Elsevier-Masson.*

Burger, D., Schock, S., Thompson, C. S., Montezano, A. C., Hakim, A. M., & Touyz, R. M. (2013). Microparticles: biomarkers and beyond. *Clinical Science* (London, England: 1979), 124(7), 423-441.

Burke, J., Seda, G., Allen, D., & Knee, T. S. (2007). A Case of Severe Exercise-Induced Rhabdomyolysis Associated with a Weight-Loss Dietary Supplement. *Military Medicine*, 172(6), 656-658.



Cavazzana, M., Stanislas, A., Rémus, C., Duwez, P., Renoult, J., Cretet, J., Fernandes, S., Mée, C., Allaf, B., Porquet, D., Munnich, A., Polak, M., Gauthereau, V., & Girot, R. (2018). Dépistage néonatal de la drépanocytose: Des données en faveur de sa généralisation. *médecine/sciences*, 34, 309-311.

Ceriello Antonio, Taboga Claudio, Tonutti Laura, Quagliaro Lisa, Piconi Ludovica, Bais Bruno, Da Ros Roberto, & Motz Enrico. (2002). Evidence for an Independent and Cumulative Effect of Postprandial Hypertriglyceridemia and Hyperglycemia on Endothelial Dysfunction and Oxidative Stress Generation. *Circulation*, 106(10), 1211-1218.

Charkoudian, N. (2010). Mechanisms and modifiers of reflex induced cutaneous vasodilation and vasoconstriction in humans. *Journal of Applied Physiology*, 109(4), 1221-1228.

- Charkoudian, N., & Stachenfeld, N. S. (2014). Reproductive Hormone Influences on Thermoregulation in Women. In *Comprehensive Physiology* (p. 793-804). American Cancer Society.
- Charkoudian, N., Stephens, D. P., Pirkle, K. C., Kosiba, W. A., & Johnson, J. M. (1999). Influence of female reproductive hormones on local thermal control of skin blood flow. *Journal of Applied Physiology*, 87(5), 1719-1723.
- Charrin, E., Ofori-Acquah, S. F., Nader, E., Skinner, S., Connes, P., Pialoux, V., Joly, P., & Martin, C. (2016). Inflammatory and oxidative stress phenotypes in transgenic sickle cell mice. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 62, 13-21
- Chen, G., Zhang, D., Fuchs, T. A., Manwani, D., Wagner, D. D., & Frenette, P. S. (2014). Heme-induced neutrophil extracellular traps contribute to the pathogenesis of sickle cell disease. *Blood*, 123(24), 3818-3827.
- Chen, Y., & Islam, A. (2016). Transgenic sickle cell trait mice do not exhibit abnormal thermoregulatory and stress responses to heat shock exposure. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 59, 124-128.
- Chen, Y.-W., Chen, Y.-C., & Wang, J.-S. (2013). Absolute hypoxic exercise training enhances in vitro thrombin generation by increasing procoagulant platelet-derived microparticles under high shear stress in sedentary men. *Clinical Science (London, England: 1979)*, 124(10), 639-649.
- Chien, S. (1987). Red cell deformability and its relevance to blood flow. *Annual Review of Physiology*, 49, 177-192.
- Chien, S., & Sung, L. A. (1987). Physicochemical basis and clinical implications of red cell aggregation. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 7(1), 71-91.
- Chirico, E. N., Faës, C., Connes, P., Canet-Soulas, E., Martin, C., & Pialoux, V. (2016). Role of Exercise-Induced Oxidative Stress in Sickle Cell Trait and Disease. *Sports Medicine*, 46(5), 629-639.
- Chirico, E. N., Martin, C., Faës, C., Féasson, L., Oyono-Enguélé, S., Aufradet, E., Dubouchaud, H., Francina, A., Canet-Soulas, E., Thiriet, P., Messonnier, L., & Pialoux, V. (2012a). Exercise training blunts oxidative stress in sickle cell trait carriers. *Journal of Applied Physiology*, 112(9), 1445-1453.
- Chirico, E. N., & Pialoux, V. (2012). Role of oxidative stress in the pathogenesis of sickle cell disease. *IUBMB Life*, 64(1), 72-80.
- Chiu, D., Lubin, B., Roelofsen, B., & van Deenen, L. L. (1981). Sickled erythrocytes accelerate clotting in vitro: an effect of abnormal membrane lipid asymmetry. *Blood*, 58(2), 398-401.
- Choi, P. J., Brunt, V. E., Fujii, N., & Minson, C. T. (2014). New approach to measure cutaneous microvascular function: an improved test of NO-mediated vasodilation by thermal hyperemia. *Journal of Applied Physiology*, 117(3), 277-283. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01397.2013>
- Clanton, T. L. (2007). Hypoxia-induced reactive oxygen species formation in skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 102(6), 2379-2388.
- Cohen-Solal, M., Préhu, C., Wajcman, H., Poyart, C., Bardakdjian-Michau, J., Kister, J., Promé, D., Valentin, C., Bachir, D., & Galactéros, F. (1998). A new sickle cell disease phenotype associating Hb S trait, severe pyruvate kinase deficiency (PK Conakry), and an alpha2 globin gene variant (Hb Conakry). *British Journal of Haematology*, 103(4), 950-956.
- Colombo, M., Raposo, G., & Théry, C. (2014, octobre 6). Biogenesis, Secretion, and Intercellular Interactions of Exosomes and Other Extracellular Vesicles [Review-article].

- Connes, P. (2010). Hemorheology and exercise: effects of warm environments and potential consequences for sickle cell trait carriers. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 20 Suppl 3, 48-52.
- Connes, P., Alexy, T., Detterich, J., Romana, M., Hardy-Dessources, M.-D., & Ballas, S. K. (2016). The role of blood rheology in sickle cell disease. *Blood reviews*, 30(2), 111-118.
- Connes, P., Hue, O., Hardy-Dessources, M.-D., Boucher, J. H., Pichot, V., & Barthélémy, J.-C. (2008). Hemorheology and heart rate variability: is there a relationship? *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 38(4), 257-265.
- Connes, P., Hue, O., Tripette, J., & Hardy-Dessources, M.-D. (2008). Blood rheology abnormalities and vascular cell adhesion mechanisms in sickle cell trait carriers during exercise. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 39(1-4), 179-184.
- Connes, P., Pichon, A., Hardy-Dessources, M.-D., Waltz, X., Lamarre, Y., Simmonds, M. J., & Tripette, J. (2012). Blood viscosity and hemodynamics during exercise. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 51(2), 101-109.
- Connes, P., Racinais, S., Sara, F., Marlin, L., Hertogh, C., Saint-Martin, C., Etienne-Julan, E., & Hue, O. (2006). Does the pattern of repeated sprint ability differ between sickle cell trait carriers and healthy subjects. *International Journal of Sports Medicine*, 27(12), 937-942.
- Connes, P., Sara, F., Hardy-Dessources, M.-D., Etienne-Julan, M., & Hue, O. (2005). Does higher red blood cell (RBC) lactate transporter activity explain impaired RBC deformability in sickle cell trait? *The Japanese Journal of Physiology*, 55(6), 385-387.
- Connes, P., Sara, F., Hardy-Dessources, M.-D., Marlin, L., Etienne, F., Larifla, L., Saint-Martin, C., & Hue, O. (2006a). Effects of short supramaximal exercise on hemorheology in sickle cell trait carriers. *European Journal of Applied Physiology*, 97(2), 143-150.
- Connes, P., Simmonds, M. J., Brun, J.-F., & Baskurt, O. K. (2013). Exercise hemorheology: Classical data, recent findings and unresolved issues. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 53(1-2), 187-199.
- Conran, N., & Embury, S. H. (2021). Sickle cell vaso-occlusion: The dialectic between red cells and white cells. *Experimental Biology and Medicine*, 246(12), 1458-1472.
- Cooley, J. C., Peterson, W. L., Engel, C. E., & Jernigan, J. P. (1954). Clinical triad of massive splenic infarction, sickle cell trait, and high altitude flying. *Journal of the American Medical Association*, 154(2), 111-113.
- Cooper, K. E., Edholm, O. G., & Mottram, R. F. (1955). The blood flow in skin and muscle of the human forearm. *The Journal of Physiology*, 128(2), 258-267.
- Coulon, P., Constans, J., & Gosse, P. (2012). Impairment of skin blood flow during post-occlusive reactive hyperemia assessed by laser Doppler flowmetry correlates with renal resistive index. *Journal of Human Hypertension*, 26(1), 56-63.
- Cracowski, J. L., Gaillard-Bigot, F., Cracowski, C., Roustit, M., & Millet, C. (2011). Skin microdialysis coupled with Laser Speckle Contrast Imaging to assess microvascular reactivity. *Microvascular Research*, 82(3), 333-338.
- Cracowski, J.-L., & Roustit, M. (2020). Human Skin Microcirculation. *Comprehensive Physiology*, 10(3), 1105-1154.



Crandall, C. G., Wilson, T. E., Marving, J., Vogelsang, T. W., Kjaer, A., Hesse, B., & Secher, N. H. (2008). Effects of passive heating on central blood volume and ventricular dimensions in humans. *The Journal of Physiology*, 586(Pt 1), 293-301.

Cyr, A. R., Huckaby, L. V., Shiva, S. S., & Zuckerbraun, B. S. (2020). Nitric Oxide and Endothelial Dysfunction. *Critical Care Clinics*, 36(2), 307-321.



Das, S. K., Hinds, J. E., Hardy, R. E., Collins, J. C., & Mukherjee, S. (1993). Effects of physical stress on peroxide scavengers in normal and sickle cell trait erythrocytes. *Free Radical Biology & Medicine*, 14(2), 139-147.

De Caterina, R., Libby, P., Peng, H. B., Thannickal, V. J., Rajavashisth, T. B., Gimbrone, M. A., Shin, W. S., & Liao, J. K. (1995). Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. *Journal of Clinical Investigation*, 96(1), 60-68.

de Jongh, R. T., Clark, A. D. H., IJzerman, R. G., Serné, E. H., de Vries, G., & Stehouwer, C. D. A. (2004). Physiological hyperinsulinaemia increases intramuscular microvascular reactive hyperaemia and vasomotion in healthy volunteers. *Diabetologia*, 47(6), 978-986.

De Marchi, S., Prior, M., Rigoni, A., Zecchetto, S., Rulfo, F., & Arosio, E. (2012). Ascorbic acid prevents vascular dysfunction induced by oral glucose load in healthy subjects. *European Journal of Internal Medicine*, 23(1), 54-57.

de Melo-Marins, D., Farinha, J. B., Rodrigues-Krause, J., Laitano, O., & Reischak-Oliveira, A. (2021). Redox balance during exercise in the heat in healthy adults: A systematic review. *Journal of Thermal Biology*, 99, 102943.

de Sousa, C. V., Sales, M. M., Rosa, T. S., Lewis, J. E., de Andrade, R. V., & Simões, H. G. (2017). The Antioxidant Effect of Exercise: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 47(2), 277-293.

Demerath, E., Towne, B., Blangero, J., & Siervogel, R. M. (2001). The relationship of soluble ICAM-1, VCAM-1, P-selectin and E-selectin to cardiovascular disease risk factors in healthy men and women. *Annals of Human Biology*, 28(6), 664-678.

Diaw, M., Pialoux, V., Martin, C., Samb, A., Diop, S., Faes, C., Mury, P., Sall Diop, N., Diop, S.-N., Ranque, B., Mbaye, M. N., Key, N. S., & Connes, P. (2015). Sickle Cell Trait Worsens Oxidative Stress, Abnormal Blood Rheology, and Vascular Dysfunction in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, 38(11), 2120-2127.

Diaw, M., samb, A., Diop, S., Sall, N. D., Ba, A., Cissé, F., & Connes, P. (2014). Effects of hydration and water deprivation on blood viscosity during a soccer game in sickle cell trait carriers. *British Journal of Sports Medicine*, 48(4), 326-331.

Diggs, L. W., & Flowers, E. (1976). High school athletes with the sickle cell trait (Hb A/S). *Journal of the National Medical Association*, 68(6), 492-479.

Dincer, H. E., & Raza, T. (2005). Compartment syndrome and fatal rhabdomyolysis in sickle cell trait. *WMJ: Official Publication of the State Medical Society of Wisconsin*, 104(6), 67-71.

Dobbe, J. G. G., Streekstra, G. J., Strackee, J., Rutten, M. C. M., Stijnen, J. M. A., & Grimbergen, C. A. (2003). Sylllectometry: the effect of aggregometer geometry in the assessment of red blood cell shape recovery and aggregation. *IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering*, 50(1), 97-106.

Duff, R. S. (1955). Effect of adrenaline and noradrenaline on blood vessels of the hand before and after sympathectomy. *The Journal of Physiology*, 129(1), 53-64.

Duits, A. J., Pieters, R. C., Saleh, A. W., van Rosmalen, E., Katerberg, H., Berend, K., & Rojer, R. A. (1996). Enhanced levels of soluble VCAM-1 in sickle cell patients and their specific increment during vasoocclusive crisis. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 81(1), 96-98.

Durcin, M., Fleury, A., Taillebois, E., Hilairet, G., Krupova, Z., Henry, C., Truchet, S., Trötz Müller, M., Köfeler, H., Mabilletau, G., Hue, O., Andriantsitohaina, R., Martin, P., & Le Lay, S. (2017). Characterisation of adipocyte-derived extracellular vesicle subtypes identifies distinct protein and lipid signatures for large and small extracellular vesicles. *Journal of Extracellular Vesicles*, 6(1), 1305677.

~E~

E. Eckart, R., L. Scoville, S., L. Campbell, C., A. Shry, E., C. Stajduhar, K., N. Potter, R., A. Pearse, L., & Virmani, R. (2004). Sudden Death in Young Adults: A 25-Year Review of Autopsies in Military Recruits. *Annals of Internal Medicine*.

Eaton, W. A., & Hofrichter, J. (1987). Hemoglobin S Gelation and Sickle Cell Disease. *Blood*, 70(5), 1245-1266.

Edholm, O. G., Fox, R. H., & Macpherson, R. K. (1957a). Vasomotor control of the cutaneous blood vessels in the human forearm. *The Journal of Physiology*, 139(3), 455-465.

Eggleston, E. M., Jahn, L. A., & Barrett, E. J. (2007). Hyperinsulinemia Rapidly Increases Human Muscle Microvascular Perfusion but Fails to Increase Muscle Insulin Clearance: Evidence That a Saturable Process Mediates Muscle Insulin Uptake. *Diabetes*, 56(12), 2958-2963.

Eichner, E. R. (2010). Sickle Cell Trait in Sports. *Current Sports Medicine Reports*, 9(6), 347-351.

Ekenvall, L., Lindblad, L. E., Norbeck, O., & Ezzell, B. M. (1988). alpha-Adrenoceptors and cold-induced vasoconstriction in human finger skin. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*.

Eppihimer, M. J., & Lipowsky, H. H. (1996). Effects of leukocyte-capillary plugging on the resistance to flow in the microvasculature of cremaster muscle for normal and activated leukocytes. *Microvascular Research*, 51(2), 187-201.

Ernst, E. (1987). Influence of regular physical activity on blood rheology. *European Heart Journal*, 8(suppl\_G), 59-62.

Ernst, E., Danburger, L., & Saradeth, T. (1991). Changes in plasma volume after prolonged endurance exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 23(7), 884.

~F~

Faës, C., Martin, C., Chirico, E. N., Féasson, L., Oyonno-Enguelle, S., Dubouchaud, H., Francina, A., Thiriet, P., Pialoux, V., & Messonnier, L. (2012). Effect of  $\alpha$ -thalassaemia on exercise-induced oxidative stress in sickle cell trait. *Acta Physiologica (Oxford, England)*, 205(4), 541-550.

Febbraio, M. A. (2001). Alterations in energy metabolism during exercise and heat stress. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 31(1), 47-59.

Febbraio, M. A., Snow, R. J., Hargreaves, M., Stathis, C. G., Martin, I. K., & Carey, M. F. (1994). Muscle metabolism during exercise and heat stress in trained men: effect of acclimation. *Journal of Applied Physiology*, 76(2), 589-597.

- Febbraio, M. A., Snow, R. J., Stathis, C. G., Hargreaves, M., & Carey, M. F. (1994). Effect of heat stress on muscle energy metabolism during exercise. *Journal of Applied Physiology*, 77(6), 2827-2831.
- Féléto, M., Köhler, R., & Vanhoutte, P. M. (2012). Nitric oxide: Orchestrator of endothelium-dependent responses. *Annals of Medicine*, 44(7), 694-716.
- Féléto, M., & Vanhoutte, P. M. (2009). EDHF: an update. *Clinical Science (London, England: 1979)*, 117(4), 139-155.
- Ferrone, F. A. (2004). Polymerization and Sickle Cell Disease: A Molecular View. *Microcirculation*, 11(2), 115-128.
- Ferrone, F. A. (2015). The delay time in sickle cell disease after 40 years: A paradigm assessed. *American Journal of Hematology*, 90(5), 438-445.
- Flammer, A. J., Anderson, T., Celermajer, D. S., Creager, M. A., Deanfield, J., Ganz, P., Hamburg, N. M., Lüscher, T. F., Shechter, M., Taddei, S., Vita, J. A., & Lerman, A. (2012). The assessment of endothelial function: from research into clinical practice. *Circulation*, 126(6), 753-767.
- Flouris, A. D., & Schlader, Z. J. (2015). Human behavioral thermoregulation during exercise in the heat. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 25 Suppl 1, 52-64.
- Folsom, A. R., Tang, W., Roetker, N. S., Kshirsagar, A. V., Derebail, V. K., Lutsey, P. L., Naik, R., Pankow, J. S., Grove, M. L., Basu, S., Key, N. S., & Cushman, M. (2015). Prospective study of sickle cell trait and venous thromboembolism incidence. *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH*, 13(1), 2-9.
- Förstermann, U., Closs, E. I., Pollock, J. S., Nakane, M., Schwarz, P., Gath, I., & Kleinert, H. (1994). Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 23(6 Pt 2),
- Förstermann, U., Xia, N., & Li, H. (2017). Roles of Vascular Oxidative Stress and Nitric Oxide in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Circulation Research*.
- FOX, R. H., & EDHOLM, O. G. (1963). NERVOUS CONTROL OF THE CUTANEOUS CIRCULATION. *British Medical Bulletin*, 19(2), 110-114.
- Francis, R. B., & Haywood, L. J. (1992). Elevated immunoreactive tumor necrosis factor and interleukin-1 in sickle cell disease. *Journal of the National Medical Association*, 84(7), 611-615.
- Frey, M. A., & Kenney, R. A. (1979). Cardiac response to whole-body heating. *Aviation, Space, and Environmental Medicine*, 50(4), 387-389.
- Fugmann, A., Sarabi, M., Karlström, B., Berne, C., Lithell, H., & Lind, L. (2003). Blood flow is an important determinant of forearm glucose uptake following a mixed meal. *Acta Diabetologica*, 40(3), 113-117.
- Furchgott, R. F., & Zawadzki, J. V. (1980). The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 288(5789), 373-376.
- ~G~
- Gagnon, D., & Crandall, C. G. (2018). Sweating as a heat loss thermoeffector. *Handbook of Clinical Neurology*, 156, 211-232.

- Gagnon, D., Jay, O., Lemire, B., & Kenny, G. P. (2008). Sex-related differences in evaporative heat loss: the importance of metabolic heat production. *European Journal of Applied Physiology*, 104(5), 821-829.
- Gagnon, D., & Kenny, G. P. (2011). Sex modulates whole-body sudomotor thermosensitivity during exercise. *The Journal of Physiology*, 589(Pt 24), 6205-6217.
- Gagnon, D., & Kenny, G. P. (2012a). Sex differences in thermoeffector responses during exercise at fixed requirements for heat loss. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 113(5), 746-757.
- Gagnon, D., & Kenny, G. P. (2012b). Does sex have an independent effect on thermoeffector responses during exercise in the heat? *The Journal of Physiology*, 590(23), 5963-5973.
- Galloway, S. D., & Maughan, R. J. (1997). Effects of ambient temperature on the capacity to perform prolonged cycle exercise in man. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 29(9), 1240-1249.
- Garnier, Y., Ferdinand, S., Garnier, M., Cita, K.-C., Hierso, R., Claes, A., Connes, P., Hardy-Dessources, M.-D., Lapoumériou, C., Lemonne, N., Etienne-Julan, M., El Nemer, W., & Romana, M. (2020). Plasma microparticles of sickle patients during crisis or taking hydroxyurea modify endothelium inflammatory properties. *Blood*, 136(2), 247-256.
- Gilbert, M., Busund, R., Skagseth, A., Nilsen, P. A., & Solbø, J. P. (2000). Resuscitation from accidental hypothermia of 13.7 degrees C with circulatory arrest. *Lancet (London, England)*, 355(9201), 375-376.
- Gizi, A., Papassotiriou, I., Apostolakou, F., Lazaropoulou, C., Papastamataki, M., Kanavaki, I., Kalotychou, V., Goussetis, E., Kattamis, A., Rombos, I., & Kanavakis, E. (2011). Assessment of oxidative stress in patients with sickle cell disease: The glutathione system and the oxidant-antioxidant status. *Blood Cells, Molecules & Diseases*, 46(3), 220-225.
- Gladwin, M. T. (2006). Deconstructing endothelial dysfunction: soluble guanylyl cyclase oxidation and the NO resistance syndrome. *Journal of Clinical Investigation*, 116(9), 2330-2332.
- Gliemann, L., Rytter, N., Lindskrog, M., Slingsby, M. H. L., Åkerström, T., Sylow, L., Richter, E. A., & Hellsten, Y. (2017). Endothelial mechanotransduction proteins and vascular function are altered by dietary sucrose supplementation in healthy young male subjects. *The Journal of Physiology*, 595(16), 5557-5571.
- Goldstein, J., Konigsberg, W., & Hill, R. J. (1963). The structure of human hemoglobin. VI. The sequence of amino acids in the tryptic peptides of the beta chain. *The Journal of Biological Chemistry*, 238, 2016-2027.
- González-Alonso, J., & Calbet, J. A. L. (2003). Reductions in systemic and skeletal muscle blood flow and oxygen delivery limit maximal aerobic capacity in humans. *Circulation*, 107(6), 824-830.
- Gorman, A. J., & Proppe, D. W. (1984). Mechanisms producing tachycardia in conscious baboons during environmental heat stress. *Journal of Applied Physiology*.
- Gozal, D., Thiriet, P., Mbala, E., Wouassi, D., Gelas, H., Geysant, A., & Lacour, J. R. (1992). Effect of different modalities of exercise and recovery on exercise performance in subjects with sickle cell trait. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 24(12), 1325-1331.
- Granel, B., Chevillard, C., & Dessein, A. (2007). Implication de l'interleukine 13 et de son récepteur dans la sclérodémie systémique. *Revue De Medecine Interne - REV MED INTERNE*, 28, 613-622.
- Grasser, E. K., Yepuri, G., Dulloo, A. G., & Montani, J.-P. (2014). Cardio- and cerebrovascular responses to the energy drink Red Bull in young adults: a randomized cross-over study. *European Journal of Nutrition*, 53(7), 1561-1571.
- Grau, M., Pauly, S., Ali, J., Walpurgis, K., Thevis, M., Bloch, W., & Suhr, F. (2013). RBC-NOS-Dependent S-Nitrosylation of Cytoskeletal Proteins Improves RBC Deformability. *PLoS ONE*, 8(2), e56759.

Grayson, J. (1949). Vascular reactions in the human intestine. *The Journal of Physiology*, 109(3-4), 439-447.

Green, D. J., Carter, H. H., Fitzsimons, M. G., Cable, N. T., Thijssen, D. H. J., & Naylor, L. H. (2010). Obligatory role of hyperaemia and shear stress in microvascular adaptation to repeated heating in humans. *The Journal of Physiology*, 588(9), 1571-1577.

Green, D. J., Hopman, M. T. E., Padilla, J., Laughlin, M. H., & Thijssen, D. H. J. (2017). Vascular Adaptation to Exercise in Humans: Role of Hemodynamic Stimuli. *Physiological Reviews*, 97(2), 495-528.

Gupta, A., Thorson, P., Penmatsa, K. R., & Gupta, P. (2021). Rhabdomyolysis: Revisited. *The Ulster Medical Journal*, 90(2), 61-69.



Hahn, e. V., & Gillespie, e. B. (1927). Sickle cell anemia: report of a case greatly improved by splenectomy. Experimental study of sickle cell formation. *Archives of internal medicine*, 39(2), 233-254.

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press.

Han, X., Li, T., Li, Y., Yang, J., Chen, S., Zhu, X., Wang, B., Cheng, W., Wang, L., Lu, Z., Wu, X., Jiang, Y., Pan, G., & Zhao, M. (2021). Exercise and Circulating Microparticles in Healthy Subjects. *Journal of Cardiovascular Translational Research*. <https://doi.org/10.1007/s12265-021-10100-4>

Hardeman, M. R., Dobbe, J. G. G., & Ince, C. (2001). The Laser-assisted Optical Rotational Cell Analyzer (LORCA) as red blood cell aggregometer. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 25(1), 1-11.

Hardeman, M. R., Goedhart, P. T., Dobbe, J. G. G., & Lettinga, K. P. (1994). Laser-assisted optical rotational cell analyser (L.O.R.C.A.); I. A new instrument for measurement of various structural hemorheological parameters. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 14(4), 605-618.

Hargreaves, M. (2008). Physiological limits to exercise performance in the heat. *Journal of Science and Medicine in Sport*, 11(1), 66-71.

Hargreaves, M., & Spriet, L. L. (2018). Exercise Metabolism: Fuels for the Fire. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 8(8), a029744.

Harmon, K. G., Drezner, J. A., Klossner, D., & Asif, I. M. (2012). Sickle cell trait associated with a RR of death of 37 times in national collegiate athletic association football athletes: a database with 2 million athlete-years as the denominator. *British Journal of Sports Medicine*, 46(5), 325-330.

Harris, J. L. (2001). *Sickle Cell Disease*. Twenty-First Century Books.

Harvey, J. C., Roseguini, B. T., Goerger, B. M., Fallon, E. A., & Wong, B. J. (2016). Acute Thermoerapy Prevents Impairments in Cutaneous Microvascular Function Induced by a High Fat Meal. *Journal of Diabetes Research*, 2016.

Hautier, C. A., Linossier, M. T., Belli, A., Lacour, J. R., & Arsac, L. M. (1996). Optimal velocity for maximal power production in non-isokinetic cycling is related to muscle fibre type composition. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 74(1), 114-118.

Heard, H., & Barker, J. (2016). Recognizing, diagnosing, and treating rhabdomyolysis. *Journal of the American Academy of PAs*, 29(5), 29-32.

Hebbel, R. P., Morgan, W. T., Eaton, J. W., & Hedlund, B. E. (1988). Accelerated autoxidation and heme loss due to instability of sickle hemoglobin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85(1), 237-241.

- Hedreville, M., Connes, P., Romana, M., Magnaval, G., David, T., Hardy-Dessources, M.-D., Belloy, M.-S., Etienne-Julan, M., & Hue, O. (2009). Central retinal vein occlusion in a sickle cell trait carrier after a cycling race. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 41(1), 14-18.
- Heller, P., Best, W. R., Nelson, R. B., & Becktel, J. (1979). Clinical implications of sickle-cell trait and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in hospitalized black male patients. *The New England Journal of Medicine*, 300(18), 1001-1005.
- Herrick, J. B. (1910). Peculiar elongated and sickle-shaped red blood corpuscles in a case of severe anemia. *Archives of internal medicine*, vi(5), 517-521.
- Hewlett, A. W., & Van zwaluwenburg, J. G. (1909). Method for estimating the blood flow in the arm: preliminary report. *Archives of Internal Medicine*, III(3), 254-256.
- Hierso, R., Waltz, X., Mora, P., Romana, M., Lemonne, N., Connes, P., & Hardy-Dessources, M.-D. (2014). Effects of oxidative stress on red blood cell rheology in sickle cell patients. *British Journal of Haematology*, 166(4), 601-606.
- Hillman, A. R., Vince, R. V., Taylor, L., McNaughton, L., Mitchell, N., & Siegler, J. (2011). Exercise-induced dehydration with and without environmental heat stress results in increased oxidative stress. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism = Physiologie Appliquee, Nutrition Et Metabolisme*, 36(5), 698-706.
- Hines, P. C., Callaghan, M. U., Zaidi, A. U., Gao, X., Liu, K., White, J., & Tarasev, M. (2021). Flow adhesion of whole blood to P-selectin: a prognostic biomarker for vaso-occlusive crisis in sickle cell disease. *British Journal of Haematology*, 194(6), 1074-1082.
- Hodge, D., Jones, D., Martinez, R., & Buono, M. J. (2013). Time course of the attenuation of sympathetic nervous activity during active heat acclimation. *Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical*, 177(2), 101-103.
- Hodges, G. J., Jackson, D. N., Mattar, L., Johnson, J. M., & Shoemaker, J. K. (2009). Neuropeptide Y and neurovascular control in skeletal muscle and skin. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 297(3), R546-555.
- Hodges, G. J., Kosiba, W. A., Zhao, K., & Johnson, J. M. (2009). The involvement of heating rate and vasoconstrictor nerves in the cutaneous vasodilator response to skin warming. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 296(1), H51-H56.
- Hodges, G. J., Zhao, K., Kosiba, W. A., & Johnson, J. M. (2006). The involvement of nitric oxide in the cutaneous vasoconstrictor response to local cooling in humans. *The Journal of Physiology*, 574(3), 849-857.
- Hoekstra, S. P., Bishop, N. C., Faulkner, S. H., Bailey, S. J., & Leicht, C. A. (2018). Acute and chronic effects of hot water immersion on inflammation and metabolism in sedentary, overweight adults. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 125(6), 2008-2018.
- Holowatz, L. A., Thompson-Torgerson, C. S., & Kenney, W. L. (2008). The human cutaneous circulation as a model of generalized microvascular function. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 105(1), 370-372.
- Høost, U., Kelbaek, H., Rasmusen, H., Court-Payen, M., Christensen, N. J., Pedersen-Bjergaard, U., & Lorenzen, T. (1996). Haemodynamic effects of eating: the role of meal composition. *Clinical Science (London, England: 1979)*, 90(4), 269-276.
- Howley, E. T., Bassett, D. R., & Welch, H. G. (1995). Criteria for maximal oxygen uptake: review and commentary. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 27(9), 1292-1301.

Hue, O. (2011). The challenge of performing aerobic exercise in tropical environments: applied knowledge and perspectives. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, 6(4), 443-454.

Hue, O. (2012). Living and training in a tropical environment: a challenge for aerobic exercise applied knowledge and perspectives. *The West Indian Medical Journal*, 61(1), 94-97.

Hue, O., Julan, M. E., Blonc, S., Martin, S., Hertogh, C., Marlin, L., Pallud, C., & Le Gallais, D. (2002). Alactic anaerobic performance in subjects with sickle cell trait and hemoglobin AA. *International Journal of Sports Medicine*, 23(3), 174-177.



Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287-293.

Ignarro, L. J., Buga, G. M., Wood, K. S., Byrns, R. E., & Chaudhuri, G. (1987). Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery

Iguchi, M., Littmann, A. E., Chang, S.-H., Wester, L. A., Knipper, J. S., & Shields, R. K. (2012). Heat Stress and Cardiovascular, Hormonal, and Heat Shock Proteins in Humans. *Journal of Athletic Training*, 47(2), 184-190.

Ingram, V. M. (1959). Abnormal human haemoglobins. III. The chemical difference between normal and sickle cell haemoglobins. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 36, 402-411.

Intaglietta, M. (1991). Arteriolar vasomotion: implications for tissue ischemia. *Blood Vessels*, 28 Suppl 1, 1-7.

Intaglietta, M., Mirhashemi, S., & Tompkins, W. R. (1989). Capillary fluxmeter: the simultaneous measurement of hematocrit, velocity and flux. *International Journal of Microcirculation, Clinical and Experimental*, 8(3), 313-320.

Inusa, B. P. D., Hsu, L. L., Kohli, N., Patel, A., Ominu-Evbota, K., Anie, K. A., & Atoyebi, W. (2019). Sickle Cell Disease—Genetics, Pathophysiology, Clinical Presentation and Treatment. *International Journal of Neonatal Screening*, 5(2), 20.

Iredahl, F., Högstedt, A., Henricson, J., Sjöberg, F., Tesselaar, E., & Farnebo, S. (2016). Skin glucose metabolism and microvascular blood flow during local insulin delivery and after an oral glucose load. *Microcirculation*, 23(7), 597-605.

Itano, H. A. (1953). Solubilities of naturally occurring mixtures of human hemoglobin. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 47(1), 148-159.

Iwao, T., Oho, K., Nakano, R., Yamawaki, M., Sakai, T., Sato, M., Miyamoto, Y., Toyonaga, A., & Tanikawa, K. (1998). Effect of meal induced splanchnic arterial vasodilatation on renal arterial haemodynamics in normal subjects and patients with cirrhosis. *Gut*, 43(6), 843-848.



Jensen, M. D., Nguyen, T. T., Hernández Mijares, A., Johnson, C. M., & Murray, M. J. (1998). Effects of gender on resting leg blood flow: implications for measurement of regional substrate oxidation. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 84(1), 141-145.

Johnson, J. M. (1992). Exercise and the cutaneous circulation. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 20, 59-97.

- Johnson, J. M. (2010). Exercise in a hot environment: the skin circulation. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 20 Suppl 3, 29-39.
- Johnson, J. M., Minson, C. T., & Kellogg, D. L. (2014a). Cutaneous Vasodilator and Vasoconstrictor Mechanisms in Temperature Regulation. In *Comprehensive Physiology* (p. 33-89). American Cancer Society.
- Johnson, J. M., & Proppe, D. W. (2011). Cardiovascular Adjustments to Heat Stress. In *Comprehensive Physiology* (p. 215-243). American Cancer Society.
- Johnson, J. M., Yen, T. C., Zhao, K., & Kosiba, W. A. (2005). Sympathetic, sensory, and nonneuronal contributions to the cutaneous vasoconstrictor response to local cooling. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 288(4), H1573-1579.
- Jones, S. R., Binder, R. A., & Donowho, E. M. (1970a). Sudden death in sickle-cell trait. *The New England Journal of Medicine*, 282(6), 323-325.
- Juel, C., Lundby, C., Sander, M., Calbet, J. a. L., & van Hall, G. (2003). Human skeletal muscle and erythrocyte proteins involved in acid-base homeostasis: adaptations to chronic hypoxia. *The Journal of Physiology*, 548(2), 639-648.
- Jung, F., Pindur, G., Ohlmann, P., Spitzer, G., Sternitzky, R., Franke, R. P., Leithäuser, B., Wolf, S., & Park, J.-W. (2013). Microcirculation in hypertensive patients. *Biorheology*, 50(5-6), 241-255.



- Kanikkannan, N. (2002). Iontophoresis-Based Transdermal Delivery Systems. *BioDrugs*, 16(5), 339-347.
- Kariuki, S. N., & Williams, T. N. (2020). Human genetics and malaria resistance. *Human Genetics*, 139(6), 781-787.
- Kark, J. A., Posey, D. M., Schumacher, H. R., & Ruehle, C. J. (1987a). Sickle-cell trait as a risk factor for sudden death in physical training. *The New England Journal of Medicine*, 317(13), 781-787.
- Kark, J. A., Posey, D. M., Schumacher, H. R., & Ruehle, C. J. (1987b). Sickle-cell trait as a risk factor for sudden death in physical training. *The New England Journal of Medicine*, 317(13), 781-787.
- Kark, J. A., & Ward, F. T. (1994). Exercise and hemoglobin S. *Seminars in Hematology*, 31(3), 181-225.
- Kato, G. J., Nouraie, S. M., & Gladwin, M. T. (2013). Lactate dehydrogenase and hemolysis in sickle cell disease. *Blood*, 122(6), 1091-1092
- Kato, G. J., Piel, F. B., Reid, C. D., Gaston, M. H., Ohene-Frempong, K., Krishnamurti, L., Smith, W. R., Panepinto, J. A., Weatherall, D. J., Costa, F. F., & Vichinsky, E. P. (2018). Sickle cell disease. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(1), 1-22.
- Kato, G. J., Steinberg, M. H., & Gladwin, M. T. (2017). Intravascular hemolysis and the pathophysiology of sickle cell disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 127(3), 750-760.
- Kellogg, D. L. (2006). In vivo mechanisms of cutaneous vasodilation and vasoconstriction in humans during thermoregulatory challenges. *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md.: 1985), 100(5), 1709-1718.
- Kellogg, D. L., Liu, Y., Kosiba, I. F., & O'Donnell, D. (1999). Role of nitric oxide in the vascular effects of local warming of the skin in humans. *Journal of Applied Physiology*, 86(4), 1185-1190.



- Kenefick, R. W., Cheuvront, S. N., Palombo, L. J., Ely, B. R., & Sawka, M. N. (2010). Skin temperature modifies the impact of hypohydration on aerobic performance. *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md.: 1985), 109(1), 79-86.
- Kengne, A. P., Echouffo-Tcheugui, J.-B., Sobngwi, E., & Mbanya, J.-C. (2013). New insights on diabetes mellitus and obesity in Africa-part 1: prevalence, pathogenesis and comorbidities. *Heart* (British Cardiac Society), 99(14), 979-983.
- Kenney, K., Landau, M. E., Gonzalez, R. S., Hundertmark, J., O'Brien, K., & Campbell, W. W. (2012). Serum creatine kinase after exercise: Drawing the line between physiological response and exertional rhabdomyolysis. *Muscle & Nerve*, 45(3), 356-362.
- Kenney, W. L., & Johnson, J. M. (1992). Control of skin blood flow during exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 24(3), 303-312.
- Kenney, W. L., Stanhewicz, A. E., Bruning, R. S., & Alexander, L. M. (2014). BLOOD PRESSURE REGULATION III: WHAT HAPPENS WHEN ONE SYSTEM MUST SERVE TWO MASTERS: TEMPERATURE AND PRESSURE REGULATION? *European journal of applied physiology*, 114(3), 467-479.
- Kenny, G. P., & Flouris, A. D. (2014). 13 - The human thermoregulatory system and its response to thermal stress. In F. Wang & C. Gao (Éds.), *Protective Clothing* (p. 319-365). Woodhead Publishing.
- Kerle, K. K., & Nishimura, K. D. (1996). Exertional collapse and sudden death associated with sickle cell trait. *Military Medicine*, 161(12), 766-767.
- Keske, M. A., Clerk, L. H., Price, W. J., Jahn, L. A., & Barrett, E. J. (2009). Obesity Blunts Microvascular Recruitment in Human Forearm Muscle After a Mixed Meal. *Diabetes Care*, 32(9), 1672-1677.
- Key, N. S., Connes, P., & Derebail, V. K. (2015). Negative Health Implications Of Sickle Cell Trait in High Income Countries: From The Football Field To The Laboratory. *British journal of haematology*, 170(1), 5-14.
- Key, N. S., & Derebail, V. K. (2010). Sickle-Cell Trait: Novel Clinical Significance. *Hematology*, 2010, 418-422.
- Khan, F., Patterson, D., Belch, J. J. F., Hirata, K., & Lang, C. C. (2008). Relationship between peripheral and coronary function using laser Doppler imaging and transthoracic echocardiography. *Clinical Science* (London, England: 1979), 115(9), 295-300.
- Khan, F. Y. (2009). Rhabdomyolysis: a review of the literature. *The Netherlands Journal of Medicine*, 67(9), 272-283.
- Kim, J.-S., Kim, B., Lee, H., Thakkar, S., Babbitt, D. M., Eguchi, S., Brown, M. D., & Park, J.-Y. (2015). Shear stress-induced mitochondrial biogenesis decreases the release of microparticles from endothelial cells. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 309(3), H425-433.
- Kimball, A. L., McCue, P. M., Petrie, M. A., & Shields, R. K. (2018). Whole body heat exposure modulates acute glucose metabolism. *International Journal of Hyperthermia: The Official Journal of European Society for Hyperthermic Oncology, North American Hyperthermia Group*, 35(1), 644-651.
- Kitamura, K., Hangyo, K., & Yamaji, K. (1982). Finger blood flow decrease in leg exercise. *The Japanese Journal of Physiology*, 32(1), 141-144.
- Klenk, C., Brunner, H., Nickel, T., Sagmeister, F., Yilmaz, A., Infanger, D., Billich, C., Scharhag, J., Vogeser, M., Beer, M., Schütz, U., & Schmidt-Trucksäss, A. (2021). Cardiac structure and function in

response to a multi-stage marathon over 4486 km. *European Journal of Preventive Cardiology*, 28(10), 1102-1109.

Klous, L., de Ruiter, C., Alkemade, P., Daanen, H., & Gerrett, N. (2021). Sweat rate and sweat composition following active or passive heat re-acclimation: A pilot study. *Temperature*, 8(1), 90-104.

Ko, T.-P., Safo, M. K., Musayev, F. N., Salvo, M. L. D., Wang, C., Wu, S.-H., & Abraham, D. J. (2000). Structure of human erythrocyte catalase. *Acta Crystallographica Section D*, 56(2), 241-245.

Koh, Y., & Park, J. (2018). Cell adhesion molecules and exercise. *Journal of Inflammation Research*, 11, 297-306.

Kong, D.-H., Kim, Y. K., Kim, M. R., Jang, J. H., & Lee, S. (2018). Emerging Roles of Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1) in Immunological Disorders and Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(4), 1057

Koppes, G. M., Daly, J. J., Coltman, C. A., & Butkus, D. E. (1977). Exertion-induced rhabdomyolysis with acute renal failure and disseminated intravascular coagulation in sickle cell trait. *The American Journal of Medicine*, 63(2), 313-317.

Kouwaki, T., Okamoto, M., Tsukamoto, H., Fukushima, Y., & Oshiumi, H. (2017). Extracellular Vesicles Deliver Host and Virus RNA and Regulate Innate Immune Response. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(3), 666.

Krailadsiri, P., Gilcher, R., & Seghatchian, J. (2001). Leukoreduction of sickle cell trait blood: an unresolved issue. *Transfusion and Apheresis Science*, 24(2), 223-225.

Kramer, M. S., Rooks, Y., & Pearson, H. A. (1978). Growth and development in children with sickle-cell trait. A prospective study of matched pairs. *The New England Journal of Medicine*, 299(13), 686-689.

Kvandal, P., Landsverk, S. A., Bernjak, A., Stefanovska, A., Kvernmo, H. D., & Kirkebøen, K. A. (2006). Low-frequency oscillations of the laser Doppler perfusion signal in human skin. *Microvascular Research*, 72(3), 120-127.

Kvernmo, H. D., Stefanovska, A., & Kirkebøen, K. A. (2003a). Enhanced endothelial activity reflected in cutaneous blood flow oscillations of athletes. *European Journal of Applied Physiology*, 90(1-2), 16-22.

Kvernmo, H. D., Stefanovska, A., & Kirkebøen, K. A. (2003b). Enhanced endothelial activity reflected in cutaneous blood flow oscillations of athletes. *European Journal of Applied Physiology*, 90(1), 16-22.



Lambadiari, V., Mitrou, P., Maratou, E., Raptis, A., Raptis, S. A., & Dimitriadis, G. (2012). Increases in muscle blood flow after a mixed meal are impaired at all stages of type 2 diabetes. *Clinical Endocrinology*, 76(6), 825-830.

Lannoy, M., Slove, S., & Jacob, M.-P. (2014). The function of elastic fibers in the arteries: Beyond elasticity. *Pathologie Biologie*, 62(2), 79-83.

Laughlin, M. H., & McAllister, R. M. (1992). Exercise training-induced coronary vascular adaptation. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 73(6), 2209-2225.

Le Gallais, D., Bile, A., Mercier, J., Paschel, M., Tonellot, J. L., & Dauverchain, J. (1996). Exercise-induced death in sickle cell trait: role of aging, training, and deconditioning. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 28(5), 541-544.

Le Gallais, D., Lonsdorfer, J., Fabritius, H., Bogui, P., Sangare, A., & Cabannes, R. (1989). Prevalence of the sickle cell trait among students in a physical education college in Côte-d'Ivoire. *Nouvelle Revue Francaise D'hematologie*, 31(6), 409-412.

Le Gallais, D., Préfaut, C., Dulat, C., Macabies, J., & Lonsdorfer, J. (1991). Sickle cell trait in Ivory Coast athletic champions, 1956-1989. *International Journal of Sports Medicine*, 12(5), 509-510.

Le Gallais, D., Préfaut, C., Mercier, J., Bile, A., Bogui, P., & Lonsdorfer, J. (1994). Sickle cell trait as a limiting factor for high-level performance in a semi-marathon. *International Journal of Sports Medicine*, 15(7), 399-402.

Lee, J.-Y., Wakabayashi, H., Wijayanto, T., Hashiguchi, N., Saat, M., & Tochiara, Y. (2011). Ethnic differences in thermoregulatory responses during resting, passive and active heating: application of Werner's adaptation model. *European Journal of Applied Physiology*, 111(12), 2895-2905.

Leite, A. R., Borges-Canha, M., Cardoso, R., Neves, J. S., Castro-Ferreira, R., & Leite-Moreira, A. (2020). Novel Biomarkers for Evaluation of Endothelial Dysfunction. *Angiology*, 71(5), 397-410.

Loader, J., Montero, D., Lorenzen, C., Watts, R., Méziat, C., Reboul, C., Stewart, S., & Walther, G. (2015). Acute Hyperglycemia Impairs Vascular Function in Healthy and Cardiometabolic Diseased Subjects: Systematic Review and Meta-Analysis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 35(9), 2060-2072.

Loi n° 2004-806 du 9 août 2004 relative à la politique de santé publique (1).

Longo, T., & Shaines, M. (2018). Case Report: Exertional rhabdomyolysis in a spin class participant with sickle cell trait. *F1000Research*, 7, 1742.

Loosemore, M., Walsh, S. B., Morris, E., Stewart, G., Porter, J. B., & Montgomery, H. (2012). Sudden exertional death in sickle cell trait. *British Journal of Sports Medicine*, 46(5), 312-314.

Lorenzo, S., & Minson, C. T. (2010). Heat acclimation improves cutaneous vascular function and sweating in trained cyclists. *Journal of Applied Physiology*, 109(6), 1736-1743.

Lorenzo, S., Minson, C. T., Lorenzo, S., & Minson, C. T. (2010). Heat acclimation improves cutaneous vascular function and sweating in trained cyclists.

Low, D. A., Jones, H., Cable, N. T., Alexander, L. M., & Kenney, W. L. (2020). Historical reviews of the assessment of human cardiovascular function: interrogation and understanding of the control of skin blood flow. *European Journal of Applied Physiology*, 120(1), 1-16.

Luck, P., & Wakeling, A. (1980). Altered thresholds for thermoregulatory sweating and vasodilatation in anorexia nervosa. *British Medical Journal*, 281(6245), 906-908.



Maciaszek, J. L., Andemariam, B., Huber, G., & Lykotrafitis, G. (2012). Epinephrine Modulates BCAM/Lu and ICAM-4 Expression on the Sickle Cell Trait Red Blood Cell Membrane. *Biophysical Journal*, 102(5), 1137-1143.

Mah, E., Noh, S. K., Ballard, K. D., Matos, M. E., Volek, J. S., & Bruno, R. S. (2011). Postprandial hyperglycemia impairs vascular endothelial function in healthy men by inducing lipid peroxidation and increasing asymmetric dimethylarginine:arginine. *The Journal of Nutrition*, 141(11), 1961-1968.

Makaryus, J. N., Catanzaro, J. N., & Katona, K. C. (2007). Exertional rhabdomyolysis and renal failure in patients with sickle cell trait: is it time to change our approach? *Hematology (Amsterdam, Netherlands)*, 12(4), 349-352.

- Maloyan, A., Palmon, A., & Horowitz, M. (1999). Heat acclimation increases the basal HSP72 level and alters its production dynamics during heat stress. *The American Journal of Physiology*, 276(5), R1506-1515.
- Marcombes, C., Lafont, E., Jullien, V., Flamarion, E., Dion, J., Costedoat-Chalumeau, N., Pouchot, J., & Arlet, J. B. (2020). [Sickle cell trait complications: A case series of 6 patients]. *La Revue De Medecine Interne*, 41(9), 583-590.
- Marlin, L., Etienne-Julan, M., Gallais, D. L., & Hue, O. (2005). Sickle Cell Trait in French West Indian Elite Sprint Athletes. *International Journal of Sports Medicine*, 26(8), 622-625.
- Marlin, L., Sara, F., Antoine-Jonville, S., Connes, P., Etienne-Julan, M., & Hue, O. (2007). Ventilatory and lactic thresholds in subjects with sickle cell trait. *International Journal of Sports Medicine*, 28(11), 916-920.
- Martin, C., Pialoux, V., Faes, C., Charrin, E., Skinner, S., & Connes, P. (2018). Does physical activity increase or decrease the risk of sickle cell disease complications? *British Journal of Sports Medicine*, 52(4), 214-218.
- Martinez-Tellez, B., Ortiz-Alvarez, L., Sanchez-Delgado, G., Xu, H., Acosta, F. M., Merchan-Ramirez, E., Muñoz-Hernandez, V., Martinez-Avila, W. D., Contreras-Gomez, M. A., Gil, A., Labayen, I., & Ruiz, J. R. (2019). Skin temperature response to a liquid meal intake is different in men than in women. *Clinical Nutrition*, 38(3), 1339-1347.
- Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesi, C., & Giovannini, C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 16(10), 577-586.
- Matheson, P. J., Wilson, M. A., & Garrison, R. N. (2000). Regulation of intestinal blood flow. *The Journal of Surgical Research*, 93(1), 182-196.
- Maughan, R. J., Otani, H., & Watson, P. (2012). Influence of relative humidity on prolonged exercise capacity in a warm environment. *European Journal of Applied Physiology*, 112(6), 2313-2321.
- Mccurdy, P. R. (1969). 32DFP and 51Cr for Measurement of Red Cell Life Span in Abnormal Hemoglobin Syndromes. *Blood*, 33(2), 214-224.
- Messonnier, L., Samb, A., Tripette, J., Gogh, B. D., Loko, G., Sall, N. D., Féasson, L., Hue, O., Lamothe, S., Bogui, P., & Connes, P. (2012). Moderate endurance exercise is not a risk for rhabdomyolysis or renal failure in sickle cell trait carriers. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 51(3), 193-202.
- Michailidis, Y., Jamurtas, A. Z., Nikolaidis, M. G., Fatouros, I. G., Koutedakis, Y., Papassotiriou, I., & Kouretas, D. (2007). Sampling Time is Crucial for Measurement of Aerobic Exercise-Induced Oxidative Stress. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 39(7), 1107-1113.
- Minson, C. T. (2010). Thermal provocation to evaluate microvascular reactivity in human skin. *Journal of Applied Physiology*, 109(4), 1239-1246.
- Minson, C. T., Berry, L. T., & Joyner, M. J. (2001). Nitric oxide and neurally mediated regulation of skin blood flow during local heating. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 91(4), 1619-1626.
- Minson, C. T., & Cotter, J. D. (2016). CrossTalk proposal: Heat acclimatization does improve performance in a cool condition. *The Journal of Physiology*, 594(2), 241-243.
- Möckesch, B., Charlot, K., Jumet, S., Romana, M., Divialle-Doumndo, L., Hardy-Dessources, M.-D., Petras, M., Tressieres, B., Tarer, V., Hue, O., Etienne-Julan, M., Connes, P., & Antoine-Jonville, S. (2017). Micro-

and macrovascular function in children with sickle cell anaemia and sickle cell haemoglobin C disease. *Blood Cells, Molecules & Diseases*, 64, 23-29.

Modell, B., & Darlison, M. (2008). Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. *Bulletin of the World Health Organization*, 86(6), 480-487.

Moldoveanu, A. I., Shephard, R. J., & Shek, P. N. (2001). The Cytokine Response to Physical Activity and Training. *Sports Medicine*, 31(2), 115-144.

Monchanin, G., Connes, P., Wouassi, D., Francina, A., Djoda, B., Banga, P. E., Owona, F. X., Thiriet, P., Massarelli, R., & Martin, C. (2005). Hemorheology, sickle cell trait, and alpha-thalassemia in athletes: effects of exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 37(7), 1086-1092.

Monchanin, G., Serpero, L. D., Connes, P., Tripette, J., Wouassi, D., Bezin, L., Francina, A., Ngongang, J., de la Peña, M., Massarelli, R., Gozal, D., Thiriet, P., & Martin, C. (2007a). Effects of progressive and maximal exercise on plasma levels of adhesion molecules in athletes with sickle cell trait with or without alpha-thalassemia. *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md.: 1985), 102(1), 169-173.

Monchanin, G., Serpero, L. D., Connes, P., Tripette, J., Wouassi, D., Francina, A., Massarelli, R., Gozal, D., Thiriet, P., & Martin, C. (2008a). Plasma levels of adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 in athletes with sickle cell trait with or without alpha-thalassemia during endurance exercise and recovery. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 40(2), 89-97.

Morel, O., Jesel, L., Freyssinet, J.-M., & Toti, F. (2011). Cellular Mechanisms Underlying the Formation of Circulating Microparticles. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*.

Mozzarelli, A., Hofrichter, J., & Eaton, W. A. (1987). Delay time of hemoglobin S polymerization prevents most cells from sickling in vivo. *Science (New York, N.Y.)*, 237(4814), 500-506.

Muller, A. F., Fullwood, L., Hawkins, M., & Cowley, A. J. (1992). The integrated response of the cardiovascular system to food. *Digestion*, 52(3-4), 184-193

Muntzel, M. S., Anderson, E. A., Johnson, A. K., & Mark, A. L. (1995). Mechanisms of Insulin Action on Sympathetic Nerve Activity. *Clinical and Experimental Hypertension*, 17(1-2), 39-50.

Murphy, J. R. (1973). Sickle cell hemoglobin (Hb AS) in black football players. *JAMA*, 225(8), 981-982.

Murray, R. H. (1966). Cardiopulmonary effects of brief, intense thermal exposures. *Journal of Applied Physiology*.

Murtada, S.-I., & Humphrey, J. D. (2018). Regional Heterogeneity in the Regulation of Vasoconstriction in Arteries and Its Role in Vascular Mechanics. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1097, 105-128.

Murugappan, K. R., Cocchi, M. N., Bose, S., Neves, S. E., Cook, C. H., Sarge, T., Shaeff, S., & Leibowitz, A. (2019). Case Study: Fatal Exertional Rhabdomyolysis Possibly Related to Drastic Weight Cutting. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 29(1), 68-71.

Mutter, A. F., Fullwood, L., Hawkins, M., & Cowley, A. J. (1992). The Integrated Response of the Cardiovascular System to Food. *Digestion*, 52(3-4), 184-193.

Myerson, R. M., Harrison, E., & Lohmuller, H. W. (1959). Incidence and significance of abnormal hemoglobins; report of a series of 1,000 hospitalized Negro veterans. *The American Journal of Medicine*, 26(4), 543-546.



- Nadel, E. R., Mitchell, J. W., Saltin, B., & Stolwijk, J. A. (1971). Peripheral modifications to the central drive for sweating. *Journal of Applied Physiology*, 31(6), 828-833.
- Nadel, E. R., Roberts, M. F., Wenger, C. B., & Stolwijk, J. A. (1976). Sweating and skin blood flow control during progressive acclimation. *Israel Journal of Medical Sciences*, 12(8), 812-814.
- Nader, E., Conran, N., Romana, M., & Connes, P. (2021). Vasculopathy in Sickle Cell Disease: From Red Blood Cell Sickling to Vascular Dysfunction. In *Comprehensive Physiology* (p. 1785-1803). American Cancer Society.
- Nader, E., Garnier, Y., Connes, P., & Romana, M. (2021). Extracellular Vesicles in Sickle Cell Disease: Plasma Concentration, Blood Cell Types Origin Distribution and Biological Properties. *Frontiers in Medicine*, 8, 1403.
- Nader, E., Guillot, N., Lavorel, L., Hanco, I., Fort, R., Stauffer, E., Renoux, C., Joly, P., Germain, M., & Connes, P. (2018). Eryptosis and hemorheological responses to maximal exercise in athletes: Comparison between running and cycling. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 28(5), 1532-1540.
- Nader, E., Monedero, D., Robert, M., Skinner, S., Stauffer, E., Cibiel, A., Germain, M., Hugonnet, J., Scheer, A., Joly, P., Renoux, C., Connes, P., & Égée, S. (2020). Impact of a 10 km running trial on eryptosis, red blood cell rheology, and electrophysiology in endurance trained athletes: a pilot study. *European Journal of Applied Physiology*, 120(1), 255-266.
- Nader, E., Romana, M., & Connes, P. (2020). The Red Blood Cell—Inflammation Vicious Circle in Sickle Cell Disease. *Frontiers in Immunology*, 11, 454.
- Nader, E., Romana, M., Guillot, N., Fort, R., Stauffer, E., Lemonne, N., Garnier, Y., Skinner, S. C., Etienne-Julan, M., Robert, M., Gauthier, A., Cannas, G., Antoine-Jonville, S., Tressières, B., Hardy-Dessources, M.-D., Bertrand, Y., Martin, C., Renoux, C., Joly, P., ... Connes, P. (2020). Association Between Nitric Oxide, Oxidative Stress, Eryptosis, Red Blood Cell Microparticles, and Vascular Function in Sickle Cell Anemia. *Frontiers in Immunology*, 11, 551441.
- Nader, E., Skinner, S., Romana, M., Fort, R., Lemonne, N., Guillot, N., Gauthier, A., Antoine-Jonville, S., Renoux, C., Hardy-Dessources, M.-D., Stauffer, E., Joly, P., Bertrand, Y., & Connes, P. (2019a). Blood Rheology: Key Parameters, Impact on Blood Flow, Role in Sickle Cell Disease and Effects of Exercise. *Frontiers in Physiology*, 10.
- Naghma-e-Rehan. (1981). Growth Status of Children with and without Sickle Cell Trait. *Clinical Pediatrics*, 20(11), 705-709.
- Naik, R. P., & Haywood, C. (2015). Sickle cell trait diagnosis: clinical and social implications. *Hematology*, 2015(1), 160-167.
- Naik, R. P., Smith-Whitley, K., Hassell, K. L., Umeh, N. I., de Montalembert, M., Sahota, P., Haywood, C., Jenkins, J., Lloyd-Puryear, M. A., Joiner, C. H., Bonham, V. L., & Kato, G. J. (2018). Clinical Outcomes Associated With Sickle Cell Trait. *Annals of internal medicine*, 169(9), 619-627.
- Naik, R. P., Wilson, J. G., Ekunwe, L., Mwasongwe, S., Duan, Q., Li, Y., Correa, A., & Reiner, A. P. (2016). Elevated D-dimer levels in African Americans with sickle cell trait. *Blood*, 127(18), 2261-2263.
- Napoli, R., Guardasole, V., Angelini, V., Capasso, A. M., Zarra, E., Cittadini, A., Matarazzo, M., & Saccà, L. (2004). Food and red wine do not exert acute effects on vascular reactivity. *Metabolism*, 53(8), 1081-1086.
- Nava, R., & Zuhl, M. N. (2020). Heat acclimation-induced intracellular HSP70 in humans: a meta-analysis. *Cell Stress & Chaperones*, 25(1), 35-45. <https://doi.org/10.1007/s12192-019-01059-y>

- Neel, J. V. (1949). The Inheritance of Sickle Cell Anemia. *Science (New York, N.Y.)*, 110(2846), 64-66.
- Nelson, D. A., Deuster, P. A., Carter, R., Hill, O. T., Wolcott, V. L., & Kurina, L. M. (2016). Sickle Cell Trait, Rhabdomyolysis, and Mortality among U.S. Army Soldiers. *The New England journal of medicine*, 375(5), 435-442.
- Nelson, D. A., Deuster, P. A., O'Connor, F. G., & Kurina, L. M. (2018). Sickle Cell Trait and Heat Injury Among US Army Soldiers. *American Journal of Epidemiology*, 187(3), 523-528.
- Nemkov, T., Skinner, S. C., Nader, E., Stefanoni, D., Robert, M., Cendali, F., Stauffer, E., Cibiel, A., Boisson, C., Connes, P., & D'Alessandro, A. (2021). Acute Cycling Exercise Induces Changes in Red Blood Cell Deformability and Membrane Lipid Remodeling. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(2).
- Neubauer-Geryk, J., Hoffmann, M., Wielicka, M., Piec, K., Kozera, G., Brzeziński, M., & Bieniaszewski, L. (2019a). Current methods for the assessment of skin microcirculation: Part 1. *Advances in Dermatology and Allergology/Postępy Dermatologii i Alergologii*, 36(3), 247-254.
- Neubauer-Geryk, J., Hoffmann, M., Wielicka, M., Piec, K., Kozera, G., & Bieniaszewski, L. (2019b). Current methods for the assessment of skin microcirculation: Part 2. *Advances in Dermatology and Allergology/Postępy Dermatologii i Alergologii*, 36(4), 377-381.
- Neuhaus, D., Behn, C., & Gaetgens, P. (1992). Haemorheology and exercise: intrinsic flow properties of blood in marathon running. *International Journal of Sports Medicine*, 13(7), 506-511.
- Niebuhr, D. W., Chen, L., Shao, S., Goldsmith, J., Byrne, C., & Singer, D. E. (2017). Sickle Cell Trait Prevalence Among U.S. Military Service Members: 1992–2012. *Military Medicine*, 182(3-4), e1819-e1824.
- Niebuhr, D. W., Chen, L., Shao, S., Goldsmith, J., Byrne, C., & Singer, D. E. (2018). Association Between Sickle Cell Trait With Selected Chronic Medical Conditions in U.S. Service Members. *Military Medicine*, 183(11-12), e735-e740.
- Nielsen, B., Hales, J. R., Strange, S., Christensen, N. J., Warberg, J., & Saltin, B. (1993). Human circulatory and thermoregulatory adaptations with heat acclimation and exercise in a hot, dry environment. *The Journal of Physiology*, 460, 467-485.
- Nikolaidis, M. G., Kyparos, A., Hadziioannou, M., Panou, N., Samaras, L., Jamurtas, A. Z., & Kouretas, D. (2007). Acute exercise markedly increases blood oxidative stress in boys and girls. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism = Physiologie Appliquée, Nutrition Et Metabolisme*, 32(2), 197-205.
- Noguchi, C. T., & Schechter, A. N. (1985). Sickle hemoglobin polymerization in solution and in cells. *Annual Review of Biophysics and Biophysical Chemistry*, 14, 239-263.
- ~●~
- Obermeyer, Z., Samra, J. K., & Mullainathan, S. (2017). Individual differences in normal body temperature: longitudinal big data analysis of patient records. *The BMJ*, 359, j5468.
- Obiefuna, P. C. (1991). Rouleaux formation in sickle cell traits. *The Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 94(1), 42-44.
- O'Connor, F. G., Franzos, M. A., Nye, N. S., Nelson, D. A., Shell, D., Voss, J. D., Anderson, S. A., Coleman, N. J., Thompson, A. A., Harmon, K. G., & Deuster, P. A. (2021a). Summit on Exercise Collapse Associated with Sickle Cell Trait: Finding the "Way Ahead". *Current Sports Medicine Reports*, 20(1), 47-56.

O'Connor, F. G., Franzos, M. A., Nye, N. S., Nelson, D. A., Shell, D., Voss, J. D., Anderson, S. A., Coleman, N. J., Thompson, A. A., Harmon, K. G., & Deuster, P. A. (2021b). Summit on Exercise Collapse Associated with Sick Cell Trait: Finding the « Way Ahead ». *Current Sports Medicine Reports*, 20(1), 47-56.

Ouédraogo, V., Connes, P., Tripette, J., Tiendrébéogo, A. J. F., Sow, A. K., Diaw, M., Seck, M., Diop, M., Hallab, M., Belue, R., Samb, A., Ba, A., & Lefthériotis, G. (2018). Pulse wave velocity is lower in trained than in untrained sickle cell trait carriers. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 69(3), 417-424.

Ouédraogo, V., Soleti, R., Signolet, I., Diaw, M., Hallab, M., Samb, A., Andriantsitohaina, R., Ba, A., & Lefthériotis, G. (2017). Impact du trait drépanocytaire sur la rigidité artérielle des sujets africains. *JMV-Journal de Médecine Vasculaire*, 42(1), 14-20.

## ~P~

Park, J., Willoughby, D. S., Song, J. J., Leutholtz, B. C., & Koh, Y. (2018). Exercise-induced changes in stress hormones and cell adhesion molecules in obese men. *Journal of Inflammation Research*, 11, 69-75.

Park, K.-H., & Park, W. J. (2015). Endothelial Dysfunction: Clinical Implications in Cardiovascular Disease and Therapeutic Approaches. *Journal of Korean Medical Science*, 30(9), 1213-1225.

Parker, K. H. (2009). A brief history of arterial wave mechanics. *Medical & Biological Engineering & Computing*, 47(2), 111-118.

Parker, L., Morrison, D. J., Betik, A. C., Roberts-Thomson, K., Kaur, G., Wadley, G. D., Shaw, C. S., & Keske, M. A. (2020). High-glucose mixed-nutrient meal ingestion impairs skeletal muscle microvascular blood flow in healthy young men. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 318(6), E1014-E1021.

Parthasarathi, K., & Lipowsky, H. H. (1999). Capillary recruitment in response to tissue hypoxia and its dependence on red blood cell deformability. *The American Journal of Physiology*, 277(6), H2145-2157.

Pauling, L., Itano, H. A., Singer, S. J., & Wells, I. C. (1949). Sick Cell Anemia, a Molecular Disease. *Science*, 110(2865), 543-548.

Peake, J., & Suzuki, K. (2004). Neutrophil activation, antioxidant supplements and exercise-induced oxidative stress. *Exercise Immunology Review*, 10, 129-141.

Pearson, M. J., & Lipowsky, H. H. (2004). Effect of fibrinogen on leukocyte margination and adhesion in postcapillary venules. *Microcirculation (New York, N.Y.: 1994)*, 11(3), 295-306.

Pecker, L. H., & Naik, R. P. (2018). The current state of sickle cell trait: implications for reproductive and genetic counseling. *Blood*, 132(22), 2331-2338.

Peiffer, J. J., & Abbiss, C. R. (2011). Influence of environmental temperature on 40 km cycling time-trial performance. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, 6(2), 208-220.

Pergola, P. E., Kellogg, D. L., Johnson, J. M., & Kosiba, W. A. (1994). Reflex control of active cutaneous vasodilation by skin temperature in humans. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 266(5), H1979-H1984.

Périard, J. D., Cramer, M. N., Chapman, P. G., Caillaud, C., & Thompson, M. W. (2011). Cardiovascular strain impairs prolonged self-paced exercise in the heat. *Experimental Physiology*, 96(2), 134-144.

Périard, J. D., & Racinais, S. (2019). Heat Stress in Sport and Exercise: Thermophysiology of Health and Performance. Springer.



Périard, J. D., Racinais, S., & Sawka, M. N. (2015). Adaptations and mechanisms of human heat acclimation: Applications for competitive athletes and sports. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 25 Suppl 1, 20-38.

Périard, J. D., Travers, G. J. S., Racinais, S., & Sawka, M. N. (2016). Cardiovascular adaptations supporting human exercise-heat acclimation. *Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical*, 196, 52-62.

Petejova, N., & Martinek, A. (2014). Acute kidney injury due to rhabdomyolysis and renal replacement therapy: a critical review. *Critical Care (London, England)*, 18(3), 224.

Piel, F. B. (2013). [Sickle-cell disease: geographical distribution and population estimates]. *Medecine Sciences: M/S*, 29(11), 965-967.

Poirier, M. P., Gagnon, D., & Kenny, G. P. (2016). Local versus whole-body sweating adaptations following 14 days of traditional heat acclimation. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism = Physiologie Appliquée, Nutrition Et Metabolisme*, 41(8), 816-824. <https://doi.org/10.1139/apnm-2015-0698>

Poiseuille, J. L. (1844). *Recherches experimentales sur le mouvement des liquides dans les tubes de tres-petits diametres*. Imprimerie Royale.

Poole, D. C., & Jones, A. M. (2017). Measurement of the maximum oxygen uptake  $\dot{V}O_{2max}$ :  $\dot{V}O_{2peak}$  is no longer acceptable. *Journal of Applied Physiology*.

Potočnik, N., & Lenasi, H. (2016). The responses of glabrous and nonglabrous skin microcirculation to graded dynamic exercise and its recovery. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 64(1), 65-75.



Qamra, S., Roy, J., & Srivastava, P. (2011). Impact of sickle cell trait on physical growth in tribal children of Mandla district in Madhya Pradesh, India. *Annals of Human Biology*, 38(6), 685-690.

Quattrone, R. D., Eichner, E. R., Beutler, A., Adams, W. B., & O'Connor, F. G. (2015). Exercise collapse associated with sickle cell trait (ECAST): case report and literature review. *Current Sports Medicine Reports*, 14(2), 110-116.



Rabai, M., Detterich, J. A., Wenby, R. B., Hernandez, T. M., Toth, K., Meiselman, H. J., & Wood, J. C. (2014). Deformability analysis of sickle blood using ektacytometry. *Biorheology*, 51(0), 159-170.

Racinais, S., Moussay, S., Nichols, D., Travers, G., Belfekih, T., Schumacher, Y. O., & Périard, J. D. (2019). Core temperature up to 41.5°C during the UCI Road Cycling World Championships in the heat. *British Journal of Sports Medicine*, 53(7), 426-429.

Racinais, S., Périard, J. D., Karlsen, A., & Nybo, L. (2015). Effect of heat and heat acclimatization on cycling time trial performance and pacing. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 47(3), 601-606.

Radak, Z., Chung, H. Y., Koltai, E., Taylor, A. W., & Goto, S. (2008). Exercise, oxidative stress and hormesis. *Ageing Research Reviews*, 7(1), 34-42.

Ravanelli, N., Jay, O., & Gagnon, D. (2017). Sustained increases in skin blood flow are not a prerequisite to initiate sweating during passive heat exposure. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 313(2), R140-R148.

- Rees, D. C., Williams, T. N., & Gladwin, M. T. (2010). Sickle-cell disease. *Lancet (London, England)*, 376(9757), 2018-2031.
- Reid, H. L., & Obi, G. O. (1982). A study of erythrocyte deformability in sickle cell disease. *Tropical and Geographical Medicine*, 34(1), 43-46.
- Reminy, K., Hue, O., & Antoine-Jonville, S. (2020). Effect of warm environment on the skin blood flow response to food intake. *International Journal of Hyperthermia*, 37(1), 836-842.
- Rendell, M. S., Green, S. S., Catania, A., Oliveto, J., Wells, J., Banset, E. J., & Wang, H. (1997). Post-exercise cutaneous hyperaemia resulting from local exercise of an extremity. *Clinical Physiology*, 17(3), 213-224.
- Renoux, C., Joly, P., Faes, C., Mury, P., Eglénen, B., Turkay, M., Yavas, G., Yalcin, O., Bertrand, Y., Garnier, N., Cuzzubbo, D., Gauthier, A., Romana, M., Möckesch, B., Cannas, G., Antoine-Jonville, S., Pialoux, V., & Connes, P. (2018). Association between Oxidative Stress, Genetic Factors, and Clinical Severity in Children with Sickle Cell Anemia. *The Journal of Pediatrics*, 195, 228-235.
- Riera, F., Trong, T. T., Sinnapah, S., & Hue, O. (2014). Physical and perceptual cooling with beverages to increase cycle performance in a tropical climate. *PloS One*, 9(8), e103718.
- Robach, P., Boisson, R.-C., Vincent, L., Lundby, C., Moutereau, S., Gergelé, L., Michel, N., Duthil, E., Féasson, L., & Millet, G. Y. (2014). Hemolysis induced by an extreme mountain ultra-marathon is not associated with a decrease in total red blood cell volume. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 24(1), 18-27.
- Roberts, M. F., Wenger, C. B., Stolwijk, J. A., & Nadel, E. R. (1977). Skin blood flow and sweating changes following exercise training and heat acclimation. *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology*, 43(1), 133-137.
- Robinson, J. R., Stone, W. J., & Asendorf, A. C. (1976). Exercise capacity of black sickle cell trait males. *Medicine and Science in Sports*, 8(4), 244-245.
- Rockett, K. A., Clarke, G. M., Fitzpatrick, K., Hubbart, C., Jeffreys, A. E., Rowlands, K., Craik, R., Jallow, M., Conway, D. J., Bojang, K. A., Pinder, M., Usen, S., Sisay-Joof, F., Sirugo, G., Toure, O., Thera, M. A., Konate, S., Sissoko, S., Niangaly, A., ... Kwiatkowski, D. P. (2014). Reappraisal of known malaria resistance loci in a large multi-centre study. *Nature genetics*, 46(11), 1197-1204.
- Roddie, I. C., Shepherd, J. T., & Whelan, R. F. (1957). The contribution of constrictor and dilator nerves to the skin vasodilatation during body heating. *The Journal of Physiology*, 136(3), 489-497.
- Rodgers, G. P., Schechter, A. N., Noguchi, C. T., Klein, H. G., Nienhuis, A. W., & Bonner, R. F. (1984). Periodic microcirculatory flow in patients with sickle-cell disease. *The New England Journal of Medicine*, 311(24), 1534-1538.
- Romana, M., Connes, P., & Key, N. S. (2018). Microparticles in sickle cell disease. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 68(2-3), 319-329.
- Romanovsky, A. A. (2014). Skin temperature: its role in thermoregulation. *Acta Physiologica (Oxford, England)*, 210(3), 498-507.
- Roosterman, D., Goerge, T., Schneider, S. W., Bunnett, N. W., & Steinhoff, M. (2006). Neuronal Control of Skin Function: The Skin as a Neuroimmunoendocrine Organ. *Physiological Reviews*, 86(4), 1309-1379.

Rosenberry, R., & Nelson, M. D. (2020). Reactive hyperemia: a review of methods, mechanisms, and considerations. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 318(3), R605-R618.

Rossi, M., Carpi, A., Galetta, F., Franzoni, F., & Santoro, G. (2008). Skin vasomotion investigation: a useful tool for clinical evaluation of microvascular endothelial function? *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, 62(8), 541-545.

Rossi, M., Lall, K., Standfield, N., & Dornhorst, A. (1998). Impaired vasoconstriction of peripheral cutaneous blood flow in Type 1 diabetic patients following food ingestion. *Diabetic Medicine: A Journal of the British Diabetic Association*, 15(6), 463-466.

Roustit, M., Blaise, S., Millet, C., & Cracowski, J. L. (2010). Reproducibility and methodological issues of skin post-occlusive and thermal hyperemia assessed by single-point laser Doppler flowmetry. *Microvascular Research*, 79(2), 102-108.

Roustit, M., & Cracowski, J.-L. (2012). Non-invasive Assessment of Skin Microvascular Function in Humans: An Insight Into Methods. *Microcirculation*, 19(1), 47-64.

Roustit, M., & Cracowski, J.-L. (2013). Assessment of endothelial and neurovascular function in human skin microcirculation. *Trends in Pharmacological Sciences*, 34(7), 373-384.

Rowell, L. B. (1974). Human cardiovascular adjustments to exercise and thermal stress. *Physiological Reviews*, 54(1), 75-159.

Russell, R. D., Hu, D., Greenaway, T., Sharman, J. E., Rattigan, S., Richards, S. M., & Keske, M. A. (2018). Oral glucose challenge impairs skeletal muscle microvascular blood flow in healthy people. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 315(2), E307-E315.

## ~S~

Saad, A. R., Stephens, D. P., Bennett, L. A. T., Charkoudian, N., Kosiba, W. A., & Johnson, J. M. (2001). Influence of isometric exercise on blood flow and sweating in glabrous and nonglabrous human skin. *Journal of Applied Physiology*.

Said, A. S., & Doctor, A. (2017). Influence of red blood cell-derived microparticles upon vasoregulation. *Blood Transfusion = Trasfusione Del Sangue*, 15(6), 522-534.

Samb, A., Kane, M. O., Ba, A., Gadj, M., Seck, D., Badji, L., Sarr, F. B., Sarr, M., Dieng, S. A., Diakhate, E. M. N., Gueye, L., Diakhate, L., Cisse, F., & Martineaud, J. P. (2005). [Physical performance and thermoregulatory study of subjects with sickle cell trait during a sub-maximal exercise]. *Dakar Medical*, 50(2), 46-51.

Sandoo, A., van Zanten, J. J. C. S. V., Metsios, G. S., Carroll, D., & Kitas, G. D. (2010). The endothelium and its role in regulating vascular tone. *The Open Cardiovascular Medicine Journal*, 4, 302-312.

Sankaran, V., & Orkin, S. (2013). The switch from fetal to adult hemoglobin. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*.

Sara, F., Fagn  t  , S., Connes, P., Philippe, C., Hue, O., Olivier, H., Montout-Hedreville, M., Mona, M.-H., Etienne-Julan, M., Maryse, E.-J., Hardy-Dessources, M.-D., & Marie-Dominique, H.-D. (2006a). Faster lactate transport across red blood cell membrane in sickle cell trait carriers. *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md.: 1985), 100(2), 427-432.

- Sara, F., Hardy-Dessources, M.-D., Marlin, L., Connes, P., & Hue, O. (2006b). Lactate distribution in the blood compartments of sickle cell trait carriers during incremental exercise and recovery. *International Journal of Sports Medicine*, 27(6), 436-443.
- Sara, F., Hardy-Dessources, M.-D., Voltaire, B., Etienne-Julan, M., & Hue, O. (2003). Lactic response in sickle cell trait carriers in comparison with subjects with normal hemoglobin. *Clinical Journal of Sport Medicine: Official Journal of the Canadian Academy of Sport Medicine*, 13(2), 96-101.
- Sateriale, M., & Hart, P. (1985). Unexpected death in a black military recruit with sickle cell trait: case report. *Military Medicine*, 150(11), 602-605.
- Sato, K., & Sato, F. (1983). Individual variations in structure and function of human eccrine sweat gland. *The American Journal of Physiology*, 245(2), R203-208.
- Sawka, M. N., Leon, L. R., Montain, S. J., & Sanna, L. A. (2011). Integrated Physiological Mechanisms of Exercise Performance, Adaptation, and Maladaptation to Heat Stress. In *Comprehensive Physiology* (p. 1883-1928). American Cancer Society.
- Saxena, P., Chavarria, C., & Thurlow, J. (2016). Rhabdomyolysis in a Sickle Cell Trait Positive Active Duty Male Soldier. *U.S. Army Medical Department Journal*, 20-23.
- Schlader, Z. J., Stannard, S. R., & Mündel, T. (2011). Is peak oxygen uptake a determinant of moderate-duration self-paced exercise performance in the heat? *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism = Physiologie Appliquée, Nutrition Et Metabolisme*, 36(6), 863-872.
- Schneider, R. G. (1956). Incidence of Electrophoretically Distinct Abnormalities of Hemoglobin in 1550 Negro Hospital Patients. *American Journal of Clinical Pathology*, 26(11), 1270-1276.
- Seebacher, F. (2009). Responses to temperature variation: integration of thermoregulation and metabolism in vertebrates. *Journal of Experimental Biology*, 212(18), 2885-2891.
- Senturk, U. K., Yalcin, O., Gunduz, F., Kuru, O., Meiselman, H. J., & Baskurt, O. K. (2005). Effect of antioxidant vitamin treatment on the time course of hematological and hemorheological alterations after an exhausting exercise episode in human subjects. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 98(4), 1272-1279.
- Serjeant, G. R. (2010). One hundred years of sickle cell disease. *British Journal of Haematology*, 151(5), 425-429.
- Shave, R., Baggish, A., George, K., Wood, M., Scharhag, J., Whyte, G., Gaze, D., & Thompson, P. D. (2010). Exercise-Induced Cardiac Troponin Elevation: Evidence, Mechanisms, and Implications. *Journal of the American College of Cardiology*, 56(3), 169-176.
- Shelmadine, B. D., Baltensperger, A., Wilson, R. L., & Bowden, R. G. (2013). Rhabdomyolysis and acute renal failure in a sickle cell trait athlete: a case study. *Clinical Journal of Sport Medicine: Official Journal of the Canadian Academy of Sport Medicine*, 23(3), 235-237.
- Shephard, R. J. (2003). Adhesion Molecules, Catecholamines and Leucocyte Redistribution During and Following Exercise. *Sports Medicine*, 33(4), 261-284.
- Shephard, R. J. (2016). Responses of the human spleen to exercise. *Journal of Sports Sciences*, 34(10), 929-936.
- Sherif, N. E., Shahwan, L., & Sorour, A. H. (1970). The effect of acute thermal stress on general and pulmonary hemodynamics in the cardiac patient. *American Heart Journal*, 79(3), 305-317.

- Sherry, P. (1990). Sick cell trait and rhabdomyolysis: case report and review of the literature. *Military Medicine*, 155(2), 59-61.
- Sherwood, L. (2015). *Physiologie humaine*. De Boeck Supérieur.
- Silva, B. M., Neves, F. J., Rocha, N. G., Cagy, M., de Souza, M. N., & da Nóbrega, A. C. L. (2009). Intra- and inter-tester reproducibility of venous occlusion plethysmography: comparison between a manual and a semi-automatic method of blood flow analysis. *Physiological Measurement*, 30(11),
- Silva, H., Šorli, J., & Lenasi, H. (2021). Oral Glucose Load and Human Cutaneous Microcirculation: An Insight into Flowmotion Assessed by Wavelet Transform. *Biology*, 10(10), 953.
- Simmons, G. H., Wong, B. J., Holowatz, L. A., & Kenney, W. L. (2011). Changes in the control of skin blood flow with exercise training: where do cutaneous vascular adaptations fit in? *Experimental Physiology*, 96(9), 822-828.
- Singer, D. E., Byrne, C., Chen, L., Shao, S., Goldsmith, J., & Niebuhr, D. W. (2018). Risk of Exertional Heat Illnesses Associated with Sick Cell Trait in U.S. Military. *Military Medicine*, 183(7-8),
- Singer, D. E., Chen, L., Shao, S., Goldsmith, J., Byrne, C., & Niebuhr, D. W. (2018). The Association Between Sick Cell Trait in U.S. Service Members with Deployment, Length of Service, and Mortality, 1992-2012. *Military Medicine*, 183(3-4), e213-e218.
- Skinner, S. C., Diaw, M., Pialoux, V., Mbaye, M. N., Mury, P., Lopez, P., Bousquet, D., Gueye, F., Diedhiou, D., Joly, P., Renoux, C., Sow, D., Diop, S., Ranque, B., Vinet, A., Samb, A., Guillot, N., & Connes, P. (2018). Increased Prevalence of Type 2 Diabetes-Related Complications in Combined Type 2 Diabetes and Sick Cell Trait. *Diabetes Care*, 41(12), 2595-2602.
- Skinner, S., Connes, P., Sigauco-Roussel, D., Lo, M., Liu, K. L., Nader, E., Josset-Lamaugarny, A., Charrin, E., Martin, C., Romanet-Faes, C., Diaw, M., Pialoux, V., & Fromy, B. (2019). Altered blood rheology and impaired pressure-induced cutaneous vasodilation in a mouse model of combined type 2 diabetes and sickle cell trait. *Microvascular Research*, 122, 111-116.
- Skinner, S., Liu, K. L., Lo, M., Josset-Lamaugarny, A., Charrin, E., Martin, C., Pialoux, V., Fromy, B., Connes, P., & Sigauco-Roussel, D. (2020). Alterations in vascular reactivity in a transgenic mouse model of sickle cell trait. *British Journal of Haematology*, 189(4), e154-e157.
- Skinner, S., Ryan, E. D., Stafford, H. C., McMurray, R. G., Key, N. S., & Mooberry, M. J. (2020). An exploratory study of the effects of strenuous exercise on markers of coagulation activation, circulating microparticles, and inflammation in sickle cell trait. *EJHaem*, 1(1), 251-254.
- Slimen, I. B., Najar, T., Ghram, A., Dabbebi, H., Mrad, M. B., & Abdrabbah, M. (2014). Reactive oxygen species, heat stress and oxidative-induced mitochondrial damage. A review. *International Journal of Hyperthermia*, 30(7), 513-523.
- Smith, E. W., & Conley, C. L. (1953). Filter paper electrophoresis of human hemoglobins with special reference to the incidence and clinical significance of hemoglobin C. *Bulletin of the Johns Hopkins Hospital*, 93(2), 94-106.
- Smith, J. A., Telford, R. D., Kolbuch-Braddon, M., & Weidemann, M. J. (1997). Lactate/H<sup>+</sup> uptake by red blood cells during exercise alters their physical properties. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 75(1), 54-61.
- Smith, L. L., Anwar, A., Fragen, M., Rananto, C., Johnson, R., & Holbert, D. (2000). Cytokines and cell adhesion molecules associated with high-intensity eccentric exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 82(1-2), 61-67.

- Söderström, T., Stefanovska, A., Veber, M., & Svensson, H. (2003). Involvement of sympathetic nerve activity in skin blood flow oscillations in humans. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 284(5), H1638-1646.
- Song, R., Chou, Y. I. S., Kong, J., Li, J., Pan, B., Cui, M., Zhou, E., Zhang, Y., & Zheng, L. (2015). Association of endothelial microparticle with NO, eNOS, ET-1, and fractional flow reserve in patients with coronary intermediate lesions. *Biomarkers*, 20(6-7), 429-435.
- Stankovic Stojanovic, K., Steichen, O., Lefevre, G., Bachmeyer, C., Avellino, V., Grateau, G., Girot, R., & Lionnet, F. (2012). High lactate dehydrogenase levels at admission for painful vaso-occlusive crisis is associated with severe outcome in adult SCD patients. *Clinical Biochemistry*, 45(18), 1578-1582.
- Stefanovska, A., Bracic, M., & Kvermno, H. D. (1999). Wavelet analysis of oscillations in the peripheral blood circulation measured by laser Doppler technique. *IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering*, 46(10), 1230-1239.
- Stephens, D. P., Aoki, K., Kosiba, W. A., & Johnson, J. M. (2001). Nonnoradrenergic mechanism of reflex cutaneous vasoconstriction in men. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 280(4), H1496-H1504.
- Stern, M. D. (1975). In vivo evaluation of microcirculation by coherent light scattering. *Nature*, 254(5495), 56-58.
- Sureda, A., Mestre-Alfaro, A., Banquells, M., Riera, J., Drobnic, F., Camps, J., Joven, J., Tur, J. A., & Pons, A. (2015). Exercise in a hot environment influences plasma anti-inflammatory and antioxidant status in well-trained athletes. *Journal of Thermal Biology*, 47, 91-98.
- Sureda, A., Tauler, P., Aguiló, A., Cases, N., Fuentespina, E., Córdova, A., Tur, J. A., & Pons, A. (2005). Relation between oxidative stress markers and antioxidant endogenous defences during exhaustive exercise. *Free Radical Research*, 39(12), 1317-1324.
- Szocs, K. (2004). Endothelial dysfunction and reactive oxygen species production in ischemia/reperfusion and nitrate tolerance. *General Physiology and Biophysics*, 23(3), 265-295.
- ~T~
- Taylor, N. A. S. (2014). Human Heat Adaptation. In *Comprehensive Physiology* (p. 325-365). American Cancer Society.
- Theodorakopoulou, M. P., Schoina, M., & Sarafidis, P. (2020). Assessment of Endothelial and Microvascular Function in CKD: Older and Newer Techniques, Associated Risk Factors, and Relations with Outcomes. *American Journal of Nephrology*, 51(12), 931-949.
- THIJSSSEN, D. H. J., BLEEKER, M. W. P., SMITS, P., & HOPMAN, M. T. E. (2005). Reproducibility of blood flow and post-occlusive reactive hyperaemia as measured by venous occlusion plethysmography. *Clinical Science*, 108(2), 151-157.
- Thiriet, P., Le Hesran, J. Y., Wouassi, D., Bitanga, E., Gozal, D., & Louis, F. J. (1994). Sick cell trait performance in a prolonged race at high altitude. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 26(7), 914-918.
- Thiriet, P., Lobe, M. M., Gweha, I., & Gozal, D. (1991). Prevalence of the sickle cell trait in an athletic West African population. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 23(3), 389-390.
- Thogmartin, J. R. (1998). Sudden death in police pursuit. *Journal of Forensic Sciences*, 43(6), 1228-1231.

- Thogmartin, J. R., Wilson, C. I., Palma, N. A., Ignacio, S. S., Shuman, M. J., & Flannagan, L. M. (2011). Sick Cell Trait-Associated Deaths: A Case Series with a Review of the Literature\*,†. *Journal of Forensic Sciences*, 56(5), 1352-1360.
- Thom, N. J., Early, A. R., Hunt, B. E., Harris, R. A., & Herring, M. P. (2016). Eating and arterial endothelial function: a meta-analysis of the acute effects of meal consumption on flow-mediated dilation. *Obesity Reviews*, 17(11), 1080-1090.
- Thomas, K. N., van Rij, A. M., Lucas, S. J. E., Gray, A. R., & Cotter, J. D. (2016). Substantive hemodynamic and thermal strain upon completing lower-limb hot-water immersion; comparisons with treadmill running. *Temperature (Austin, Tex.)*, 3(2), 286-297.
- Thompson-Torgerson, C. S., Holowatz, L. A., & Kenney, W. L. (2008). Altered Mechanisms of Thermoregulatory Vasoconstriction in Aged Human Skin. *Exercise and sport sciences reviews*, 36(3), 122-127.
- Thoreson, C. K., O'Connor, M. Y., Ricks, M., Chung, S. T., & Sumner, A. E. (2015). Sick Cell Trait from a Metabolic, Renal, and Vascular Perspective: Linking History, Knowledge, and Health. *Journal of racial and ethnic health disparities*, 2(3), 330-335.
- Touhami, I., Fattoum, S., Bibi, A., Siala, H., Messaoud, T., Koubaa, D., Mankai, R., Bartagi, Z., & Le Gallais, D. (2010). The epidemiology of abnormal hemoglobins in Mediterranean high-level athletes. *European Journal of Applied Physiology*, 108(6), 1075-1081.
- Tran Trong, T., Riera, F., Rinaldi, K., Briki, W., & Hue, O. (2015). Ingestion of a cold temperature/menthol beverage increases outdoor exercise performance in a hot, humid environment. *PloS One*, 10(4), e0123815.
- Tripette, J., Connes, P., Beltan, E., Chalabi, T., Marlin, L., Chout, R., Baskurt, O. K., Hue, O., & Hardy-Dessources, M.-D. (2010a). Red blood cell deformability and aggregation, cell adhesion molecules, oxidative stress and nitric oxide markers after a short term, submaximal, exercise in sickle cell trait carriers. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 45(1), 39-52.
- Tripette, J., Connes, P., Hedreville, M., Etienne-Julan, M., Marlin, L., Hue, O., & Hardy-Dessources, M.-D. (2010a). Patterns of exercise-related inflammatory response in sickle cell trait carriers. *British Journal of Sports Medicine*, 44(4), 232-237.
- Tripette, J., Hardy-Dessources, M.-D., Beltan, E., Sanouiller, A., Bangou, J., Chalabi, T., Chout, R., Hedreville, M., Broquere, C., Nebor, D., Dotzis, G., Hue, O., & Connes, P. (2011). Endurance running trial in tropical environment: a blood rheological study. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 47(4), 261-268.
- Tripette, J., Hardy-Dessources, M.-D., Romana, M., Hue, O., Diaw, M., Samb, A., Diop, S., & Connes, P. (2013). Exercise-related complications in sickle cell trait. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 55(1), 29-37.
- Tripette, J., Hardy-Dessources, M.-D., Sara, F., Montout-Hedreville, M., Saint-Martin, C., Hue, O., & Connes, P. (2007). Does repeated and heavy exercise impair blood rheology in carriers of sickle cell trait? *Clinical Journal of Sport Medicine: Official Journal of the Canadian Academy of Sport Medicine*, 17(6), 465-470.
- Tripette, J., Loko, G., Samb, A., Gogh, B. D., Sewade, E., Seck, D., Hue, O., Romana, M., Diop, S., Diaw, M., Brudey, K., Bogui, P., Cissé, F., Hardy-Dessources, M.-D., & Connes, P. (2010). Effects of hydration and dehydration on blood rheology in sickle cell trait carriers during exercise. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 299(3), H908-H914.

Tryfidou, D. V., McClean, C., Nikolaidis, M. G., & Davison, G. W. (2020). DNA Damage Following Acute Aerobic Exercise: A Systematic Review and Meta-analysis. *Sports Medicine (Auckland, N.z.)*, 50(1), 103-127.

Tsaras, G., Owusu-Ansah, A., Boateng, F. O., & Amoateng-Adjepong, Y. (2009). Complications associated with sickle cell trait: a brief narrative review. *The American Journal of Medicine*, 122(6), 507-512.

Tyler, C. J., Reeve, T., Hodges, G. J., & Cheung, S. S. (2016). The Effects of Heat Adaptation on Physiology, Perception and Exercise Performance in the Heat: A Meta-Analysis. *Sports Medicine*, 46(11), 1699-1724.



Valensi, P., & Cosson, E. (2006). Hemodynamic changes in postprandial state. *Diabetes & Metabolism*, 32, 2S37-2S41.

Vandewalle, H., Lacombe, C., Lelièvre, J. C., & Poirot, C. (1988). Blood viscosity after a 1-h submaximal exercise with and without drinking. *International Journal of Sports Medicine*, 9(2), 104-107.

Veluswamy, S., Shah, P., Denton, C. C., Chalacheva, P., Khoo, M. C. K., & Coates, T. D. (2019). Vaso-Occlusion in Sickle Cell Disease: Is Autonomic Dysregulation of the Microvasculature the Trigger? *Journal of Clinical Medicine*, 8(10), 1690.

Vincent, L., Féasson, L., Oyono-Enguélé, S., Banimbek, V., Denis, C., Guarneri, C., Aufradet, E., Monchanin, G., Martin, C., Gozal, D., Dohbobga, M., Wouassi, D., Garet, M., Thiriet, P., & Messonnier, L. (2010). Remodeling of skeletal muscle microvasculature in sickle cell trait and alpha-thalassemia. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 298(2), H375-384.

Vincent, L., Féasson, L., Oyono-Enguélé, S., Banimbek, V., Monchanin, G., Dohbobga, M., Wouassi, D., Martin, C., Gozal, D., Geysant, A., Thiriet, P., Denis, C., & Messonnier, L. (2010). Skeletal muscle structural and energetic characteristics in subjects with sickle cell trait, alpha-thalassemia, or dual hemoglobinopathy. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 109(3), 728-734.

Vincent, L., Oyono-Enguélé, S., Féasson, L., Banimbek, V., Dohbobga, M., Martin, C., Thiriet, P., Francina, A., Dubouchaud, H., Sanchez, H., Chapot, R., Denis, C., Geysant, A., & Messonnier, L. (2012). Effects of regular physical activity on skeletal muscle structural, energetic, and microvascular properties in carriers of sickle cell trait. *Journal of Applied Physiology*.

Virdis, A., Masi, S., Colucci, R., Chiriaco, M., Uliana, M., Puxeddu, I., Bernardini, N., Blandizzi, C., & Taddei, S. (2019). Microvascular Endothelial Dysfunction in Patients with Obesity. *Current Hypertension Reports*, 21(4), 32.

Voltaire, B., Galy, O., Coste, O., Recinais, S., Callis, A., Blanc, S., Hertogh, C., & Hue, O. (2002). Effect of fourteen days of acclimatization on athletic performance in tropical climate. *Canadian Journal of Applied Physiology = Revue Canadienne De Physiologie Appliquee*, 27(6), 551-562.



W. DIGGS, L., F. AHMANN, C., & BIBB, J. (2020). THE INCIDENCE AND SIGNIFICANCE OF THE SICKLE CELL TRAIT\*. *Annals of Internal Medicine*.

Walløe, L. (2015). Arterio-venous anastomoses in the human skin and their role in temperature control. *Temperature: Multidisciplinary Biomedical Journal*, 3(1), 92-103.

Walsh, N. P., Gleeson, M., Shephard, R. J., Gleeson, M., Woods, J. A., Bishop, N. C., Fleshner, M., Green, C., Pedersen, B. K., Hoffman-Goetz, L., Rogers, C. J., Northoff, H., Abbasi, A., & Simon, P. (2011). Position statement. Part one: Immune function and exercise. *Exercise Immunology Review*, 17, 6-63.



- Wang, H., Martone, M., Owens, M. E., Lemoine, N. P., Marucci, J., Calvert, D., Mullenix, S., Church, T. S., Rood, J., Harrell, B., Irving, B. A., Spielmann, G., & Johannsen, N. M. (2021). NCAA Division I American football players with sickle cell trait have altered hematological responses and hydration status. *Scientific Reports*, 11.
- Wasserman, K., Whipp, B. J., Koyl, S. N., & Beaver, W. L. (1973). Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. *Journal of Applied Physiology*, 35(2), 236-243.
- Webber, B. J., Uptegraft, C. C., Nye, N. S., & O'Connor, F. G. (2018). Association of Sickle Cell Trait and Hemoglobin S Percentage with Physical Fitness. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 50(12), 2488-2493.
- Weinert, D., & Waterhouse, J. (2007). The circadian rhythm of core temperature: effects of physical activity and aging. *Physiology & Behavior*, 90(2-3), 246-256.
- Weisman, I. M., Zeballos, R. J., Martin, T. W., & Johnson, B. D. (1988). Effect of Army basic training in sickle-cell trait. *Archives of Internal Medicine*, 148(5), 1140-1144.
- Westerman, M. P., Green, D., Gilman-Sachs, A., Beaman, K., Freels, S., Boggio, L., Allen, S., Schlegel, R., & Williamson, P. (2002). Coagulation changes in individuals with sickle cell trait. *American Journal of Hematology*, 69(2), 89-94.
- Wijayanto, T., Wakabayashi, H., Lee, J.-Y., Hashiguchi, N., Saat, M., & Tochiyama, Y. (2011). Comparison of thermoregulatory responses to heat between Malaysian and Japanese males during leg immersion. *International Journal of Biometeorology*, 55(4), 491-500.
- Wilkins, R. W., & Bradley, S. E. (1946). CHANGES IN ARTERIAL AND VENOUS BLOOD PRESSURE AND FLOW DISTAL TO A CUFF INFLATED ON THE HUMAN ARM. *American Journal of Physiology-Legacy Content*. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1946.147.2.260>
- Wilmore, J. H., Costill, D. L., & Kenney, L. (2017). *Physiologie du sport et de l'exercice*. De Boeck Supérieur.
- Wirthwein, D. P., Spotswood, S. D., Barnard, J. J., & Prahlow, J. A. (2001). Death due to microvascular occlusion in sickle-cell trait following physical exertion. *Journal of Forensic Sciences*, 46(2), 399-401.
- Wishner, B. C., Ward, K. B., Lattman, E. E., & Love, W. E. (1975). Crystal structure of sickle-cell deoxyhemoglobin at 5 Å resolution. *Journal of Molecular Biology*, 98(1), 179-194.
- Witko-Sarsat, V., Gausson, V., & Descamps-Latscha, B. (2003). Are advanced oxidation protein products potential uremic toxins? *Kidney International. Supplement*, 84, S11-14.
- Wong, B. J., & Minson, C. T. (2011). Altered thermal hyperaemia in human skin by prior desensitization of neurokinin-1 receptors. *Experimental Physiology*, 96(6), 599-609.
- Wood, K. C., Hebbel, R. P., & Granger, D. N. (2004). Endothelial cell P-selectin mediates a proinflammatory and prothrombotic phenotype in cerebral venules of sickle cell transgenic mice. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 286(5), H1608-H1614.
- Wyndham, C. H. (1967). Effect of acclimatization on the sweat rate-rectal temperature relationship. *Journal of Applied Physiology*, 22(1), 27-30.



- Xu, J. Z., & Thein, S. L. (2019). The carrier state for sickle cell disease is not completely harmless. *Haematologica*, 104(6), 1106-1111.

## ~Y~

Yalcin, O., Erman, A., Muratli, S., Bor-Kucukatay, M., & Baskurt, O. K. (2003). Time course of hemorheological alterations after heavy anaerobic exercise in untrained human subjects. *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md.: 1985), 94(3), 997-1002.

Yu, E. P. K., & Bennett, M. R. (2016). The role of mitochondrial DNA damage in the development of atherosclerosis. *Free Radical Biology and Medicine*, 100, 223-230. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.06.011>

## ~Z~

Zhang, D., Xu, C., Manwani, D., & Frenette, P. S. (2016). Neutrophils, platelets, and inflammatory pathways at the nexus of sickle cell disease pathophysiology. *Blood*, 127(7), 801-809.

Zhang, J., & Friedman, M. H. (2012). Adaptive response of vascular endothelial cells to an acute increase in shear stress magnitude. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 302(4), H983-

Zhang, J., & Friedman, M. H. (2013). Adaptive response of vascular endothelial cells to an acute increase in shear stress frequency. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 305(6), H894-H902.

Zhou, J., Li, Y.-S., & Chien, S. (2014). Shear stress-initiated signaling and its regulation of endothelial function. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 34(10), 2191-2198.

Zimmerman, J., Granatir, R., Mummert, K., & Cioffi, R. (1974). Sickle crisis precipitated by exercise rhabdomyolysis in a patient with sickle cell trait: case report. *Military Medicine*, 139(4), 313-315.

Zimmerman, J. L., & Shen, M. C. (2013). Rhabdomyolysis. *Chest*, 144(3), 1058-1065.

Zimmermann, M., Landers, G., Wallman, K., & Kent, G. (2018). Precooling With Crushed Ice: As Effective as Heat Acclimation at Improving Cycling Time-Trial Performance in the Heat. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, 13(2), 228-234.

# *ANNEXES*

1. Rapports de cas

Auteurs	Age (ans)	T°C Ext	Exercice	T°C Cent	Diagnostic	Evolution	%HbS
<b>Militaires (niveau d'activité physique et sportive faible)</b>							
(Jones et al., 1970b)	19	-	Course, 1 mile à 1220 m alt	37°11	Crise drépanocytaire, hyperkaliémie, acidose métabolique	Mort en 24 h	HbAS
(Jones et al., 1970b)	21	-	Course à 1220 m alt	-	Crise drépanocytaire, hyperkaliémie, acidose métabolique	Mort en 8 h	HbAS
(J. Zimmerman et al., 1974)	22	28.8°C	Course 3 miles	40°C	Rhabdomyolyse avec myoglobinurie	Mort en 65 h	35%
(Koppes et al., 1977)	19	29.3°C	Course d'obstacles à 2163 m alt	37.8°C	Rhabdomyolyse avec myoglobinurie	Mort en 33 h	42%
(Kark & Ward, 1994)	17	7.8°C	Course 1.5 miles	37.2°C	Rhabdomyolyse, sévère coagulation intradisséminée précoce et infractus (?),	Mort en 4.5 h	40.4%
Kark (non publié)	19	Eté	Course 1 mile	-	Rhabdomyolyse avec myoglobinurie	Mort en 21 h	42%
Kark (non publié)	19	26.1°C	Course 2.5 miles	40.6°C	Insolation, arythmie cardiaque, athérosclérose coronaire	Mort en qqes min	42.4%
Kark (non publié)	30	18°C	Test d'aptitude 2 miles	38.9°C	Rhabdomyolyse	Mort en 48 h	40%
Gardner (1994)	19	12.8°C	Course d'escalade de colline	36.7°C	Rhabdomyolyse avec myoglobinurie, insolation	Mort en 26 h	43%
(Kerle & Nishimura, 1996)	-	-	Entraînement de base	-	-	Mort pendant l'entraînement	HbAS
(Thogmartin, 1998)	13	-	Course poursuite - Police	-	- présentait de l'asthme	Mort en quelques heures	HbAS
<b>Sportifs</b>							
Ewing (1974)	19	Eté	Entraînement de football à 1647 m alt	-	Sévère insuffisance rénale, acidose métabolique, coagulation intravasculaire disséminée, rhabdomyolyse, sans nécrose hépatique et rénale	Mort en 19.5 h	40%
Buddington(1974)	22	-	Course 1 mile	-	Second arrêt cardiaque en 24 h, absence d'insolation	Mort en 24 h	HbAS

George (1979)	31	-	Natation	-	Rhabdomyolyse avec myoglobulinurie	Mort en 40 j	40%
Rosenthal (1992)	22	23.9°C	Course 0.5 miles	37°C	Arrêt cardiaque, rhabdomyolyse	Mort en 48 h	37%
(Le Gallais et al., 1996)	41	normal	Cross-country	-	-	Mort pendant la course	HbAS
(Wirthwein et al., 2001)	3 jeunes	-	Exercice modérée à intense	-	-	Ques h	HbAS
(Dincer & dincRaza, 2005)	31	21.1°C	5 miles	36.6°C	Signes initiaux : douleurs aux jambes, état fébrile, 115 bpm, Tension 85/45 mmHg. Rhabdomyolyse, insuffisance rénale, acidose et coagulation sévère. Chirurgie: fasciotomie.	Mort > 8 h	29.6%
(Burke et al., 2007)	22 (obèse)		Exercice préparation physique		(x2) Rhabdomyolyse fulminante : hématurie, protéinurie, hypotension, ischémie musculaire, syndrome des loges. D-dimère +++	Lésions sévères multiorganique (reins, cerveau, muscle)	ND
(Anzalone et al., 2010a)	19		16 successives sprints	76 farennitgt	Rhabdomyolyse fulminante : hyperkaliémie: arythmie cardiaque	Mort 15h	ND
(Quattrone et al., 2015)	20		Course de 1.5 kilomètre	-	Rhabdomyolyse d'effort : crampes sévères, hématurie, CK et LDH expose Déshydratation	Déclaré mort après 23 jours et 3jours sans activité neurologiques	-
(Makaryus et al., 2007)	27	-	Course de 1.5 kilomètre	Pas communiqué	CK, protéinurie, hyperglycémie, faiblesse musculaire insuffisance rénale aigue	Survivant	
(Shelmadine et al., 2013)	19		5 intervalle de 300m pré saison football		Insuffisance rénale aigue	Survivant avec un traitement	

## 2. Résultats des études épidémiologiques : Prévalence des PTDs militaires ou civiles sportifs et incidence des complications multiples (Rhabdomyolyse, EHI)

Auteurs	Milieu	Pourcentage/population	Pays/régions	Commentaires
<i>Prévalence militaires, sportifs</i>				
(Diggs & Flowers, 1976)	Observations sur deux saisons Football et basket (1974-75)	Sur 142 sportifs-15 PTDs (10.5%)	USA (Tennessee)	Répartition PTDs = CTLs
(Murphy, 1973)	NFL (national football league)	Sur 579 prélèvements 39 PTDs (6.7%)	USA	Répartition PTDs = CTLs
(Bilé et al., 1998)	Population sportives (1956-1995)	7.3 % PTDs	USA	Répartition PTDs = CTLs
(Le Gallais et al., 1989)	Athlètes étudiants	13.7% PTDs vs 12% non-PTDs (NM) 25% vs 25.7% (NI)	Côte-d'Ivoire	Activités Ex PTDs > CTLs
(Thiriet et al., 1991)	Athlètes institut nationale de la jeunesse et des sports Yaoundé	Sur 145 étudiants 19% PTDs sportifs professionnels	Cameroun	Répartition PTDs = CTLs
(Le Gallais et al., 1991)	1956-1995	Sur 13 champions parmi 129 durant cette période 32 titre (400m) et 1 800m	Abidjan (CI)	(400-800 m) PTDs > CTLs
(Le Gallais et al., 1994)	Admissible pour semi-marathon	1506 (123 PTDs 8.2%) 29 était classé	Abidjan (CI)	Semi-marathon PTDs < CTLs
(Thiriet et al., 1994)	Course en montagne (34.1km, pente 7 à 40% et altitude 615 à 4095m)	Sur 266 coureurs 33 PTDs (12.4%)	Cameroun	Répartition PTDs = CTLs Perf PTDs < CTLs
(Touhami et al., 2010)	National Centre of Medicine and Sciences in Sports of Tunis	Sur 594 athlètes de haut niveau (5.4% SCT)	Afrique	Répartition PTDs = CTLs
(Marlin et al., 2005)	Athlètes sprinteurs sélectionnés sur l'année 2000	Sur 16 athlètes 3 étaient PTDs (18.75 %)	Antilles française (Guadeloupe)	Répartition PTDs = CTLs
(Hue et al., 2002)	STAPS	Sur 196 étudiants 16 PTDs (8.2%)	Antilles française (Guadeloupe Martinique)	Saut vertical PTDs > CTLs Test VMA PTDs = CTLs

(Myerson et al., 1959)	<b>Militaires (1957-58)</b>	Sur 1000 vétérans noirs admis à l'hôpital 74 PTDs (7.4%)	USA	Répartition hospitalisations PTDs = CTLs
(E. W. Smith & Conley, 1953)	<b>Militaires</b>	Sur 500 militaires 36 PTDs (7.2%)	USA	Répartition hospitalisations PTDs = CTLs
(Schneider, 1956)	<b>Militaires</b>	Sur 1550 patients noirs 9% de PTDs	USA	Répartition hospitalisations PTDs = CTLs
<b>Incidence mortalité, RE, EHI, MC</b>				
(Kark et al., 1987a)	<b>Militaires</b>		USA	<b>32,2 mortalité PTDs &gt; CTLs</b>
(Nelson et al., 2016)	<b>Militaires</b>		USA	<b>RE PTDs &gt; CTLs (2.12)</b>
(Nelson et al., 2018)	<b>Militaire 2011-2014</b> EHI (992.0 à .9)	n = 48 384 543 blessures légères 45 PTDs 61 CP 5 PTDs	USA	EHI PTDs = CTLs
(Harmon et al., 2012)	<b>NCAA 2004-2008</b>		USA	<b>Mortalité 37 fois PTDs &gt; CTLs</b>
(Anderson, 2017)	<b>NCAA 2002-2011</b>	Sur l'année 2000 12 décès d'athlètes PTDs	USA	<b>Mortalité 1ere division PTDs &gt; CTLs</b>
(Singer, Byrne, et al., 2018)				<b>EHI : (&gt; 30ans, F, NR) PTDs &gt; CTLs</b>
(Singer, Chen, et al., 2018)	<b>Militaires 1992-2012 (21 ans)</b> ethnie, sexe, services, EHI	Sur 75 401 militaires 15 081 PTDs	USA	Durée de service PTDs > CTLs
(Niebuhr et al., 2017)				PTDs = Noirs, non hispanique, dans la marine, chez les femmes âgées de 18-19ans, population africaine
(Niebuhr et al., 2018)	<b>Militaires 1992-2012 (21 ans)</b> Maladies chroniques (TEV, DT2, AVC,IR)	1323 PTDs (suivis jusqu'en 2013)	USA	<b>MC 1.71 PTDs &gt; CTLs</b>

*MS : mort subite, PTDs : porteurs du trait drépanocytaire, AVC accident cérébral vasculaire, CTLs : sujets contrôles, MC : maladies chroniques, EHI : complications liées à la chaleur, NI : niveau international, NR : nouvelles recrues militaires*

### 3. Complications non-traumatiques liées à l'exercice

<b>Complications (en anglais / français)</b>	<b>Définition</b>	<b>Critères de distinctions</b>	<b>Symptômes</b>
<b><i>La rhabdomyolyse d'effort</i></b>	<b><u>Destruction massive de fibres musculaires striées squelettiques</u></b>	<b><u>Douleur musculaire intense, Effondrement</u></b> potentiel mais pas toujours, Température ne s'élève pas toujours	Faiblesse musculaire intense, insuffisance rénale aiguë, hématurie potentielle
<b><i>Épuisement par la chaleur</i></b>	<b><u>Incapacité à maintenir un débit cardiaque adéquat</u></b> pour combiné la demande métabolique et thermorégulatrice en raison d'une pratique en environnement chaud	Difficultés à poursuivre son effort <b><u>T°int (101-104 °F /38.3-40 °C)</u></b> Aucun dysfonctionnement du système nerveux centrale	Fatigue excessive, nausée, vomissement, ataxie passagère, vertiges, tachycardie, hyperventilation et troubles transitoires de la cognition
<b><i>Blessure dû à la chaleur</i></b>	<b><u>Stade antérieure au coup de chaleur sans dysfonctionnement SNC.</u></b> Condition intermédiaire entre le coup de chaleur et l'épuisement à la chaleur	Effondrement à l'effort <b><u>T° int 104 à 105°F (40 à 40,5°C)</u></b>	Lésions tissulaire : foie, reins, muscle
<b><i>Le coup de chaleur d'effort</i></b>	Maladie multi-systémique caractérisée par un <b><u>dysfonctionnement du SNC</u></b> , lésions tissulaires et organique supplémentaire	<b><u>T° int &gt; (104 °F/40-41°C)</u></b>  Absence de transpiration (pas systématique)	Désorientation, maux de tête, coma, comportement irrationnel, irritabilité, confusion, altération de la conscience
<b><i>Effondrement à l'exercice associé au PTD (ECAST en anglais)</i></b>	<b><u>Caractérisé par un effondrement</u></b> confondu avec un coup de chaleur	Effondrement potentiel <b><u>T° int &lt; 103 °F</u></b>	Crampes, pas de convulsions, survient tôt dans la pratique



4. Résumé des études cliniques : adaptations à l'exercice chez les PTDs

Références	Populations	Types d'exercice	VO2max, PMA, seuils, HRmax, Ppic	Lactatémie	Hémorhéologie	Inflammation/ Adhérence (VCAM,CAM, selectines)	Stress oxydatif, NO,coagulation
<i>(Samb et al., 2005)26°C 70%humidité</i>	Entraînés (STAPS, athlètes)	Exercice aérobic sous- maximal (15, 40min et 1h cycloergomètre)	AS = AA	-	AS = AA	-	-
<i>(Beltan et al., 2011)</i>				-	-	-	Fibrinogène AS= AA  aPPT AS > AA  Prot C AS < AA
<i>(Monchanin et al., 2008a)</i>				↑ AS > AA (3 dernières min)	-	ICAM-1, TNF-alpha AS = AA ↑VCAM AS > AA	
<i>(Tripette, Connes, Beltan, et al., 2010a)</i>				-	↑ Hct, AS = AA  ↑ηb, AS > AA ↓Def AS < AA	↑ P, L-selectines AS > AA	↓ NO AS < AA  TBARs AS > AA
<i>(Tripette et al., 2010)</i>				-	↑Hct, AS = AA  ↑ηp AS > AA (hyd et desh)	-	
<i>(Vincent, Féasson, 2010)</i>	Sédentaires	Exercice aérobic Maximal (TI un ou Plusieurs cycloergomètre)	AS = AA	-	-	AS =AA ICAM-1, VCAM-1, E- selectine, P-selectine, IL- 8, et IL-10 ↓IL-4 AS < AA	-
<i>(Vincent, et al., 2010)</i>	Entraînés		AS = AA activité enz : PFK, LDH, HAD, CS ↓COx IIa AS < AA ↑ surface fib Ix	AS = AA	-	-	-
<i>(Faës et al., 2012)</i>			AA = AS	-	-	-	Antioxydants AA = AS ↓ NO AS < AA ↑MDA, AOPP AS > AA
<i>(Marlin et al., 2007)</i>			-	-	-	-	-
<i>Marlin et al., 2005)</i>			-	-	-	-	-

(Monchanin et al., 2005) spécialistes des sports d'endurance	Entraînés			-	Rig GRs AS > AA Hct AS < AA ↑ηb45 AS > AA (24h post-E)	-	-	
(Monchanin et al., 2007b)				↑AS > AA (3 dernières min)	-	ICAM-1, TNF-alpha AS = AA ↑VCAM AS > AA	-	
(Tripette et al., 2007)					-	Hct, ηp AS = AA ηb, Rigidité GRs AS > AA	-	-
(Tripette et al., 2010)					-	-	AS = AA (VCAM, CAM) Leu AS > AA P-selectine AS > AA	-
(Sara, et al., 2006)					↑ [La] AS = AA ↑influx La GRs, MCT-1 AS > AA	-	-	-
(Sara, et al., 2006)			AS = AA Évolution FC AS < AA	↑ [La] AS = AA Évolution AS < AA	-	-	-	
(Sara et al., 2003)			AS = AA	La production et/ou la clairance [La] plasma, GRs AS = AA	-	-	-	
(Webber et al., 2018)		Exercice anaérobie (100m, sauts vertical, crush)	Abdominaux 1 min AS > AA	-	-	-	-	
(Hue et al., 2002) STAPS			Saut V AS > AA 100m AS = AA	-	-	-	-	

PFK : phosphofruktokinase, LDH : lactate déshydrogénase, HAD : la β-hydroxyacyl-CoA déshydrogénase et CS : la citrate synthase, COx : cytochrome c- oxydase, écriture rouge : différences entre les AA et AS, écriture noire : similitudes entre les AA et les AS, GRs : globules rouges, FC : fréquences cardiaque, PMA : puissance maximale aérobie, VO2max : consommation maximale en oxygène, NO : monoxyde d'azote, < : inférieur à , > supérieur à, saut V : saut vertical

5. Recommandations de la pratique sportive en fonction des conditions environnementales (Périard & Racinais, 2019)

Indicateurs	Risques encouru	Valeurs du WBGT	Recommandations	Valeurs du WBGT	Recommandations
<b>Drapeau noir</b>	Extrême	> 28 °C 82 °F	Repousser les compétitions, ou attendre que le temps s'améliore Quoiqu'il en soit il est fortement conseiller de rester vigilant	<b>27.9-30 °C</b> (82.1-86 °F)	Annulation de la compétition (risque de coup de chaleur élevé)
<b>Drapeau rouge</b>	Elevé	<b>23-28 °C</b> (73-82 °F)	Chacun doit être conscient des risques de blessure la personne à risque ne doit pas participer à la compétition	<b>25.7-27.8 °C</b> (78-82.1°F)	Risque pour les personnes inaptes et non acclimatées est élevé
<b>Drapeau jaune</b>	Modéré	<b>18-23 °C</b> (65-73 °F)	Le risque augmente au fur et à mesure que l'événement progresse dans la journée	<b>22.3-25.6 °C</b> (72.1-78 °F)	Le risque pour tous les athlètes est accru
<b>Drapeau vert</b>	Faible	< 18 °C (65 °F)	Le risque existe bien qu'il soit faible, mais les personnes inaptes doivent rester sur le pied de guerre	<b>18.4-22.2 °C</b> (65.1-72 °F)	Le risque de EHS et d'autres maladies liées à la chaleur commence à augmenter les individus à haut risque doivent être surveillés ou ne pas concourir
<b>Drapeau blanc</b>	Très faible	< 10 °C (50 °C)	Risque très bas d'hyperthermie, en revanche propice à l'hypothermie	<b>10.1-18.3 °C</b> (50.0-65 °F)	Généralement sans risque

## 6. Effet de la prise alimentaire sur la fonction microvasculaire

Références	Populations	Méthodes/outils	Protocole alimentaire	Résultats
(Fugmann et al., 2003)	16 CTLs (23 ans)	<b>Pléthysmographie veineuse</b> Av-bras + mollet	<b>Repas solide</b>	↗ SkBF
(Høost et al., 1996)	8 CTLs (20-27 ans)	<b>Pléthysmographie veineuse</b> Av-bras + mollet	<b>Repas solide</b> (60kcal/kg)	↗ SkBF
(Muller et al., 1992)	14 CTLs (30 ans)	<b>Pléthysmographie</b> : Mollet	<b>Repas solide</b> (800kcal)	↗ SkBF
(Lambadiari et al., 2012)	11 CTLs/11 préDT2, 10 intolérants, 10 DT2 hyperglycémique à en post-prandial 13 DT2 hyperglycémique jeun/posthyperglycémie	<b>Pléthysmographie à jauge de contrainte</b> : Av-bras	<b>Repas solide</b> (730 kcal)	↗SkBF CTLs
(de Jongh et al., 2004)	12 CTLs	<b>Pléthysmographie</b> : Jambe <b>Capillaroscopie</b> : Doigts Iontophorèse (Ach/SNP/occlusion) Vasomotion par LDF jambe	Clamp hyperinsulinémie ou eau saline	↗Clamp hyperinsulinémique musculaire
(Napoli et al., 2004)	10 CTLs (23 ans)	<b>Pléthysmographie</b> : av-bras	<b>Repas solide</b> (3190Kj=762kcal)	↔FBF (post-prandial)
(Luck & Wakeling, 1980)	13 AN 16 ans 13 CTLs F 20ans	<b>Pléthysmographie veineuse</b> : main	<b>Repas liquide</b>	↔ CTLs ↘ Anorexiques
(Jensen et al., 1998)	17 CTLs / 11pré-ménauposées	<b>Vert de indocyanine</b> : jambe	<b>Repas solide</b>	↔Blood flow
(Keske et al., 2009)	8 personnes maigres 8 Obèses	<b>Laser Doppler ultrason</b> av-bras	<b>Repas solide</b> (480kcal)	↗SkBF mince ↘SkBF obèses (2 heures après le repas/60min)
(Russell et al., 2018)	18 CTLs (6 F, 12 H 46 ans)	<b>FMD</b>	<b>Repas solide</b> Et OGC (50g de glucose)	↘FMD (1hPP)
(Grasser et al., 2014)	25 CTLs	<b>Doppler ultrason</b> (cérébral) <b>Iontrophorèse + LDF</b> : main face dorsale	<b>Boisson</b> (red bull) 355 ml/355 ml d'eau du robinet	↗ SkBF Ach (2hPP) ↘ CB (avec redbull)

(Harvey et al., 2016)	8 CTLs (4F/4H 18-32ans)	LDF + LHT	Repas solide : Crème glacée	↙ SkBF
(Rossi et al., 1998)	13 DT2 7 CTLs	LDF : pulpe de l'orteil	Repas solide	↙ SkBF DT2 > CTLs
(Martinez-Tellez et al., 2019)	106 CTLs (36H/68F 18-25ans)	T°cut 17 points	Repas liquide (4 °C) (50% glucides 35% lipides, 15% protéines).	↙ Vasoconstriction periphérique (1hPP)
Forst et al., 1998	10 CTLs (4F H6 28 ans)		OGTT (75g)/ eau	↙ SkBF
Keen et al., 2015	6 CTLs (24 ans)	LDF : LHT	Boisson : 70ml jus de bettrave	↗ Plateau NO-dépendant
(Thom et al., 2016) Meta-analyse	78 études comparaison pre vs post- prandial	FMD	Repas solide	↙ pdt 4h RGras ↙ pdt 2h RGlu
(Silva et al., 2021)	16 CTLs (11 M/ 5F 21 ans)	LDF et PORH pulpe du doigt et av-bras Analyse spectrale	OGTT (75g ou de l'eau)	↙ doigts ↗ av-bras

*AN : Anorexique nerveuse ; CTLs : controles/personnes saines, LHT : hyperhémie thermique cutanée ; CB : flux cérébral, Ach : acétylcholine, RGras : repas riche en graisse, RGlu : repas riche en glucides, PP : Post-prandial, F : femmes, H : hommes, Sb : skin blood flow, FBF : forearm blood flow, OGTT : test oral de glucose, LDF : laser doppler flowmeter, DT2 : diabète de type 2, FMD : Flow mediated dilatation.*

***PUBLICATION 1***



## Effect of warm environment on the skin blood flow response to food intake

K. Reminy , O. Hue & S. Antoine-Jonville

To cite this article: K. Reminy , O. Hue & S. Antoine-Jonville (2020) Effect of warm environment on the skin blood flow response to food intake, International Journal of Hyperthermia, 37:1, 836-842, DOI: [10.1080/02656736.2020.1788174](https://doi.org/10.1080/02656736.2020.1788174)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/02656736.2020.1788174>



© 2020 The Author(s). Published with license by Taylor & Francis Group, LLC



Published online: 07 Jul 2020.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 527





View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)

## Effect of warm environment on the skin blood flow response to food intake

K. Reminy , O. Hue and S. Antoine-Jonville 

Laboratoire ACTES (Adaptation Climat Tropical Exercice Santé, EA3596), Université des Antilles, Pointe-à-Pitre, Guadeloupe, France

### ABSTRACT

**Background and objective:** Warm exposure places high demands on thermoregulation mechanisms, which depend on the effectiveness of the microvascular function. The associations between the microcirculation and metabolism in warm environments have received little attention. The purpose of this study was to explore skin blood flow (SkBF) in response to food intake in a warm environment compared to control.

**Methods:** Thirty-two healthy, acclimated-to-warm-environment and physically active participants were recruited (20 females and 12 males). They participated in two sessions (warm environment: 31 °C and control: 20 °C, presented in randomized order). SkBF was measured before and after standardized food intake through the acquisition of perfusion signals by laser Doppler flowmetry (Periflux System 5000), following a local heating protocol.

**Results:** SkBF was affected by the environmental temperature, showing an increase in the warm environment compared to control (all  $p < .001$ ). SkBF was significantly affected by food intake (all  $p < .007$ ), being reduced after meals. In the men's group, SkBF was reduced in both environmental temperatures after meals. In women, meals affected SkBF at 20 °C but not in the warm environment.

**Conclusion:** These results may indicate a competition between thermo- and glyco-regulation in a warm environment to the detriment of glucose homeostasis in women.

### ARTICLE HISTORY

Received 19 March 2020

Revised 29 May 2020

Accepted 18 June 2020

### KEYWORDS

Glycemia; microvascular function; glyco-regulation; heat; climate

## Introduction

Exposure to heat places a high demand on thermoregulatory mechanisms, whose effectiveness is based on microvascular function [1]. Due to the vasomotor capacity of the vessels, blood is redistributed according to thermal changes. Increasing and decreasing blood flow in response to changes in both core and skin temperatures contributes to the matching of heat elimination with heat production. The adaptation of the skin blood flow plays a major role in human thermoregulatory control [2]. Therefore, an alteration in this control has important clinical implications and can substantially impair the ability to maintain normal body temperatures.

Microvascular dysfunction can contribute to metabolic disorders, although it is more likely to be consecutive to them. This is the case in diabetes – particularly long-term or untreated diabetes corresponding to poor glycemic control – which leads to declines in vascular health, with occurrences of both peripheral microvascular and macrovascular dysfunction. Impaired vasodilation and the subsequent insufficient skin blood flow and sweating responses explain in part the reduced capacity to dissipate heat [3].

Most of the observations have concerned men. Nevertheless, some authors have identified thermal response patterns specific to women along with differences in

exogenous heat load, heat loss and endogenous heat load during exercise, which have been related to their body surface to body mass ratio, subcutaneous fat content, and lower exercise capacity [4].

In healthy people, it is well known that carbohydrate metabolism is altered with warm exposure [5–7]. However, both (1) the effects of heat exposure on metabolism and the subsequent impact on microvascular function and (2) the reverse situation of the effects of heat-related microvascular alterations on metabolic dysfunction have been poorly investigated. Little research has associated these two situations, although millions of people are concerned.

The purpose of this study was twofold: to investigate the effect of warm exposure on the skin blood flow as a reflection of microvascular function in young healthy men and women in fasting condition, and to compare the skin blood flow in these same participants in response to food intake (i.e., pre- versus postprandial) in warm and control conditions.

## Materials and methods

### Study design

After inclusion, each participant was examined on two separate occasions (2–7 days apart) in either a control



environment (wet-bulb globe temperature (WBGT):  $(20 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C})$  or a warm environment  $(31 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C})$ . The environmental temperatures were continuously measured during the trials with a HD32.2 device (Delta Ohm, Padova, Italy) and the order of the exposures was randomized.

Sessions started between 6.30 and 8.00 AM after a minimum 12 h overnight fast. The participants were instructed to abstain from high-intensity exercise and alcohol intake the day before each session. The clinical measurements were performed within 15 min of arrival at the lab unless additional time was required to obtain a resting state. Then, a skin blood flow (SkBF) measurement protocol, including baseline values and the response to local heating, was applied before and after a standardized meal proportional to each participant's mass.

### Participants

Thirty-two (20 females and 12 males) healthy, acclimated-to-tropical-climate and physically active young adults were recruited. To participate in this study, they had to have lived in the West Indies for at least 6 months. Inclusion criteria were the following: age  $\geq 18$  and  $\leq 30$  years, body mass index (BMI)  $\geq 18.0$  and  $\leq 25.0 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ , acclimated to tropical climate, nonsmoking, normotensive, and practicing moderate or intensive physical activity three times a week. Exclusion criteria were the following: chronic or acute disease, medication use, and history of heat exhaustion or food allergy. All procedures used in this study were in accordance with institutional guidelines and the Helsinki Declaration of 2013. The study procedures were approved by the Human Subject Review Committee (CPP 17.10.10). The protocol (TDEX) was registered in EudraCT (2017-A02226-47).

### Clinical measurements

Data on body composition were collected by bioelectrical impedance analysis using an InBody 720 analyzer with InBody 3.0 software (BioSpace, Seoul, South Korea) to determine body fat mass. BMI was calculated from weight and height data. Tympanic temperature was measured with a digital ear thermometer (Omron Gentle Temp 520) in all experimental sessions in pre- and postprandial states. Systolic and diastolic blood pressures were measured with a tensiometer (Omron M6, Healthcare Co., Ltd., Kyoto, Japan) before each skin blood flow measurement in the two experimental sessions. Glycemia was monitored twice (pre- and postprandial) during the experimental sessions with an Accu-Chek Performa glucometer (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

### Skin blood flow

SkBF and SkBF response to local hyperthermia were measured by laser Doppler flowmetry using the Periflux System 5000 (Perimed, Järfälla, Sweden) and its associated software Perisoft (Perimed), which enables continuous SkBF recording (mV). Laser Doppler flowmetry provides continuous real-time

measurement of local microcirculatory blood flow. A temperature-controlled skin probe was attached to the distal pad of the middle finger of the left hand with adhesive tape.

### Local hyperthermia protocol

After 5 min of recording (baseline phase, recording the baseline level), skin temperature was raised to  $42 \text{ }^\circ\text{C}$  at a rate of  $0.1 \text{ }^\circ\text{C}/\text{s}$  [8] for 20 min. This local hyperthermia produces profound vasodilation, also known as cutaneous thermal reactive hyperemia. Local hyperthermia results in a biphasic increase in blood flow: (1) a rapid increase with a peak (peak phase, after local hyperthermia) reached within the first 5 min of hyperthermia, related to axon reflex, and followed by a brief nadir, and (2) a prolonged plateau (plateau phase, after local hyperthermia), mainly induced by nitric oxide (NO) [9].

### Meal protocol

The participants' diet was controlled during the two experimental sessions. After the first measure of SkBF, they were invited to eat. They were presented with a tray of ham and cheese sandwiches of known energy composition, along with a glass of tropical juice (Banga<sup>®</sup>), with the quantity equal to 4 mL/kg body weight. The meal lasted 20 min. They were instructed to eat everything.

### Statistical analyses

Repeated measures analyses of variance were performed for the relevant variables as follows: with three factors: environmental temperature with two levels (warm and control), prandial state with two levels (pre- and post-), and measurement phases with three levels (baseline, peak, and plateau), or with two factors: environmental temperature with two levels (warm and control) in prandial state with two levels (pre- and post).

As the environmental temperature  $\times$  meal  $\times$  sex interaction effects on the main variables were significant, the men's and women's data were separated for independent statistical analyses in order to enhance understandability.

Data were tested for sphericity using Mauchly's test and if the assumption of sphericity was violated, the Greenhouse–Geisser correction was used to adjust the degrees of freedom. Post-hoc Scheffé's tests were performed in cases of a significant interaction effect. All results were analyzed with the SPSS 23 software package (SPSS Inc, Chicago, IL, USA). Statistical significance was set at  $p < .05$ . All data are reported as mean  $\pm$  SD unless otherwise stated.

## Results

Table 1 presents the participants' anthropometric characteristics. Data are presented separately based on sex.

**Table 1.** Participants' anthropometric characteristics.

Variables	Age (years)	Height (m)	Body mass (kg)	Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	Fat mass (%)	Systolic blood pressure (mmHg)	Diastolic blood pressure (mmHg)
Women <i>N</i> = 20	22.1 ± 3.1	1.64 ± 0.06	59.1 ± 7.9	22.0 ± 2.2	24.8 ± 6.4	111 ± 8	74 ± 4
Men <i>N</i> = 12	20.0 ± 1.3	1.79 ± 0.07	72.9 ± 11.3	22.6 ± 2.4	10.9 ± 6.0	116 ± 11	74 ± 10

**Table 2.** Glycemia and mean arterial blood pressure before and after the meal in the two environmental conditions.

	20 °C		31 °C	
	Pre-prandial	Postprandial	Pre-prandial	Postprandial
Glycemia (g/L) women	0.90 ± 0.11	1.12 ± 0.15*	0.94 ± 0.11	1.30 ± 0.14* <sup>#</sup>
Glycemia (g/L) men	0.90 ± 0.08	1.11 ± 0.14*	0.96 ± 0.06	1.32 ± 0.18* <sup>#</sup>
Mean arterial blood pressure (mmHg) women	86 ± 6	86 ± 7	85 ± 8	84 ± 9
Mean arterial blood pressure (mmHg) men	88 ± 9	87 ± 6	90 ± 8	87 ± 7

Post-hoc results are identified as follows. \*Significant difference as compared with the pre-prandial state in the same environmental temperature. <sup>#</sup>Significant difference as compared with the control environmental temperature.

### Glycemia

Glycemia (Table 2) was affected by the environmental temperature ( $p < .001$  in women and  $p < .001$  in men), with higher values observed in warm temperature than in control temperature. There was a significant simple effect of meal (all  $p < .012$  in women and men). The temperature  $\times$  meal interaction was significant in both women and men (all  $p < .015$ ), with a larger pre – postprandial increase at 31 °C than at 20 °C.

### Blood pressure

Mean blood pressure was not affected by environmental temperature, the meal or their interaction (all  $p > .11$  in women and men; Table 2).

### Skin blood flow

Regarding the comparison between the warm and control environments before the meal, SkBF was affected in all phases by the environmental temperature (single effect of environmental temperature:  $p < 0.001$ ) in the women (Figure 1(A)) and men (Figure 2(A)), with higher values at 31 °C than at 20 °C. SkBF was also measured in response to the local heating protocol: we observed a simple effect of phase (baseline, peak and plateau) characterizing the reactivity to local heat stress in both women ( $p < .001$ ) and men ( $p < .001$ ). The phase  $\times$  environmental temperature interaction was significant in women ( $p = .002$ ) and men ( $p = .001$ ).

The meal effect was significant in men ( $p = .007$ ). In the women's group ( $p = .017$ ), there was an interaction effect for meal  $\times$  environmental temperature ( $p < .001$ ).

The analysis of variance for the men's and women's SkBF variations in response to the local heating protocol pre- and postprandial and in the two environmental conditions revealed no other significant interaction, such as meal  $\times$  environmental temperature  $\times$  phase ( $p > .14$ ) or other interactions where the meal was implied.

### Determinants of skin blood flow

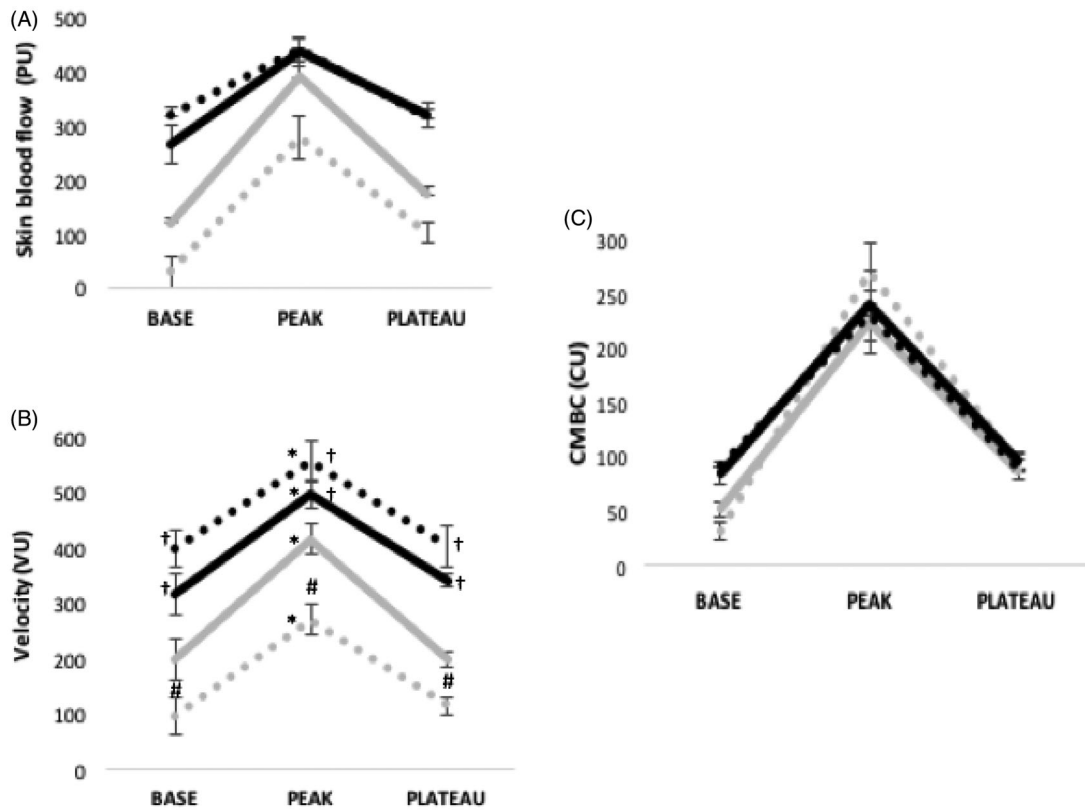
The velocity and concentration of moving blood cells (CMBC) were affected in all phases by the environmental temperature (single effect of environmental temperature:  $p < .001$  in women and men, Figure 2(B,C)), with higher values at 31 °C than at 20 °C. Velocity was the only determinant significantly affected by the meal in both women ( $p = .032$ ) and men ( $p < .001$ ). CMBC was not modified from pre- to post-meal ( $p > .11$  in women and men). There was a simple effect of phases in both groups for the two determinants (all  $p < .001$ ).

The meal  $\times$  environmental temperature  $\times$  phase interaction was significant for velocity ( $p = .041$  and  $p < .001$  for women and men, respectively). The post-hoc results are presented in Figures 2(B) and 3(B). The only significant interaction for CMBC was the phase  $\times$  environmental temperature interaction in women ( $p = .009$ ).

### Discussion

In this study, we confirmed that food intake reduces the skin blood flow, as previously observed in a control environment. The originality of the present study lies in the observation of microvascular adaptations in response to food intake in a warm environment. Our main observations are as follows: (1) the skin blood flow in men was higher in the warm environment than in the control environment in both the pre- and postprandial states, with similar drops from the pre- to post-state; and (2) the food intake of the women affected the blood flow level and reactivity, taken as reflections of microvascular function, in the control condition but not in the warm environment, where the skin blood flow remained unchanged after the meal compared to before.

Participants were exposed to control (20 °C) and warm (31 °C) environments for the investigation of microvascular function before and after food intake. Although the effects of a passive exposure to warmth have been extensively documented, the effects of warm exposure on the vascular function have thus far been studied without taking the effect of food intake into account. It is widely accepted that



**Figure 1.** Skin blood flow (PU) and its determinants in response to local heating in women before (solid line) and after (dashed line) the meal at 20°C (gray line) and at 31°C (black line). (A) Skin blood flow (PU) phases ( $p < .001$ ); temperature ( $p < .001$ ); temperature  $\times$  phase ( $p = .002$ ); meal  $\times$  temperature ( $p = .01$ ); all other  $p > .13$ . (B) Velocity (VU) phases ( $p < .001$ ); temperature ( $p < .001$ ); meal  $\times$  temperature ( $p < .001$ ); all other  $p > .29$ . (C) Concentration of moving blood cell (CU) phases ( $p < .001$ ); temperature  $\times$  phase ( $p = .02$ ); all other  $p > .20$ . Post-hoc velocity results are identified as follows: \*Significant difference as compared with baseline phase in the same meal state and environmental condition. #Significant difference as compared with the pre-prandial state in the same environmental condition. †Significant difference as compared with the control temperature.

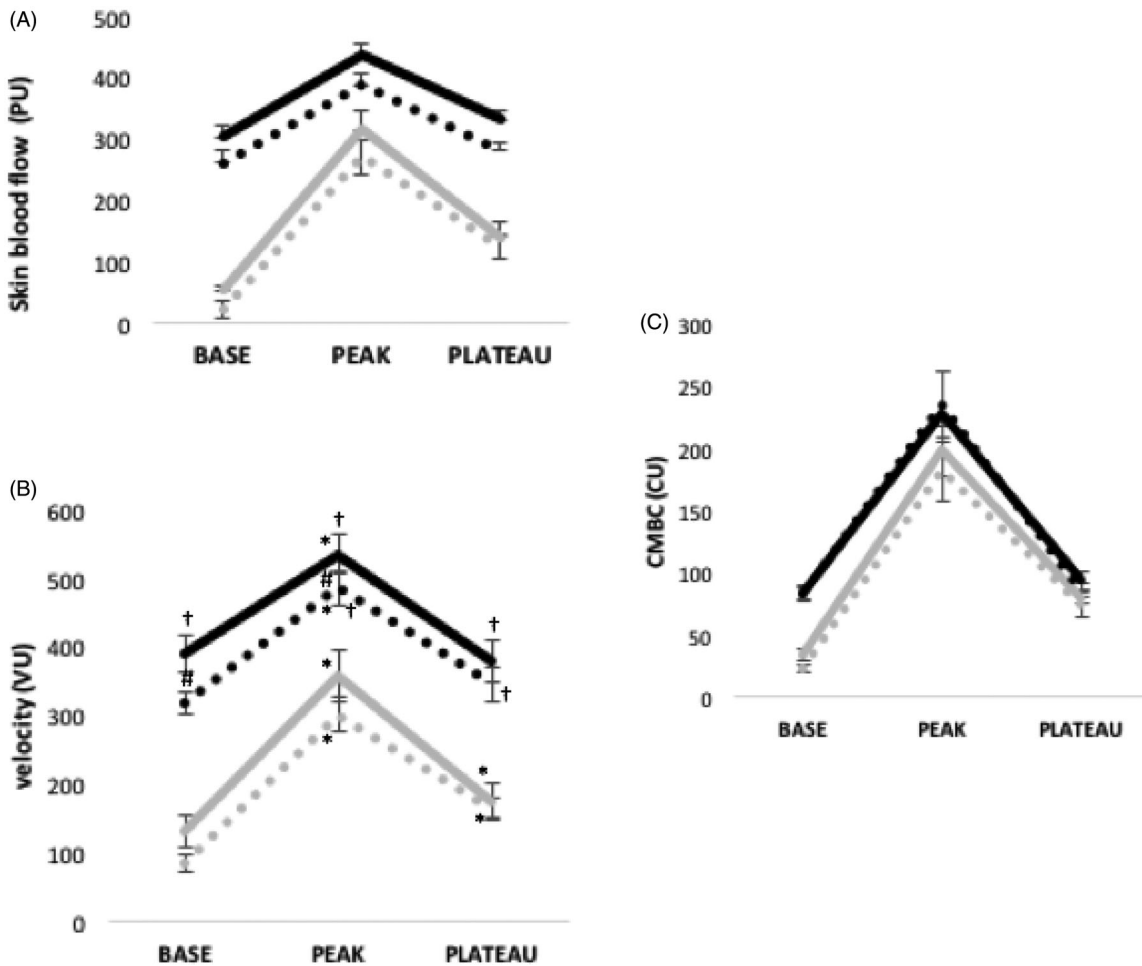
adaptation to a warm environment is characterized by an increase in skin blood flow [2, 10]. In this study, the effect of the environmental temperature on both men and women was significant, SkBF being higher at 31°C than at 20°C (Figures 3(A)–4(A)) in relation with significant increases in both its determinants: velocity and CMBC. These data support previous work demonstrating that SkBF increases during passive body heating to favor heat loss [2]. This increase in SkBF has been described as being the result of a temperature-dependent redistribution of total blood flow [2], with a reduction in splanchnic and renal blood flow simultaneous to an increase in cardiac output upwards of 60% [10,11]. The central role of the vascular endothelium in regulating vascular homeostasis is largely mediated by NO, the major endogenous vasodilator [12]. This study focused not only on the effects of warm exposure on skin blood flow taken as a reflection of microvascular function in fasting condition, as discussed above, but also on the interaction between the environmental temperature and food intake on skin blood flow.

Regarding the latter, different results were observed in men and women. We showed that food intake in men reduced SkBF, particularly due to decreased velocity. Comparable results regarding the meal effect have been shown after an oral glucose tolerance test (OGTT) [13] or after a meal [14,15] in several studies using a technique similar to the one used in this study: laser Doppler flowmetry

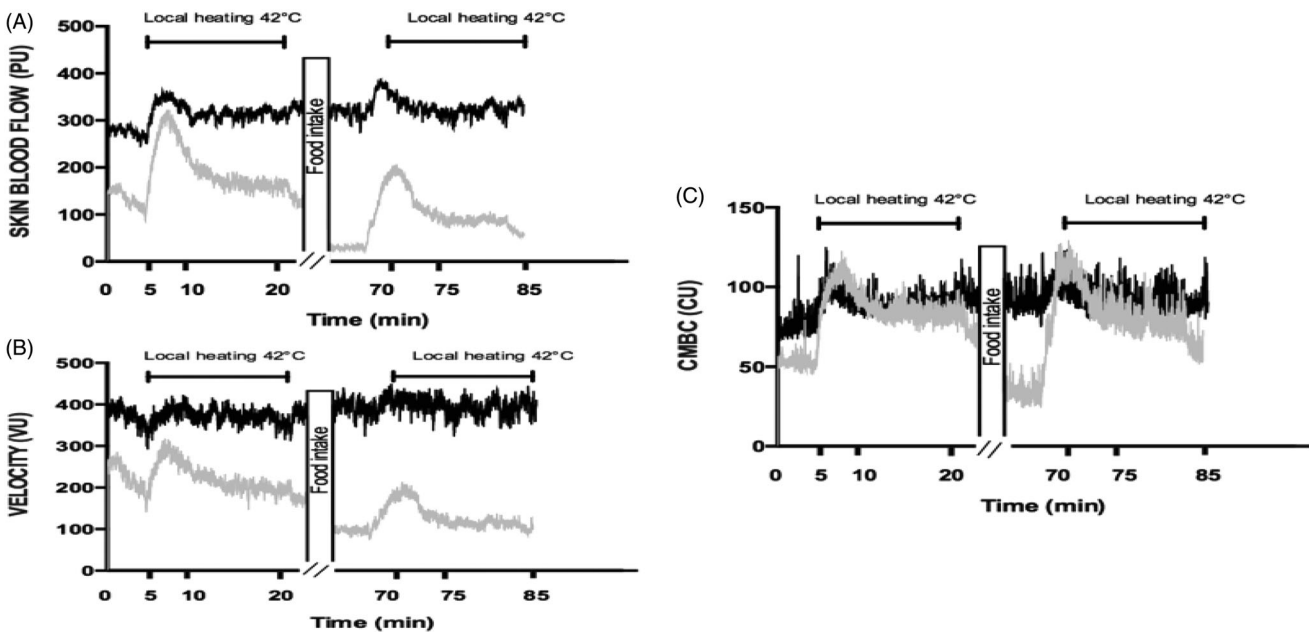
with a local hyperthermia protocol. Other studies using different methods of microvascular exploration have shown greater discrepancies, although most have reported results similar to ours, with a postprandial peripheral reduction in SkBF. For example, a load of 75-g glucose attenuated flow-mediated dilatation one hour after ingestion in healthy subjects [16]. Comparable results were also observed in a study comparing the effects of an OGTT on flow-mediated dilatation in participants with normal glucose tolerance, those with impaired glucose tolerance, and patients with diabetes [17]. It should be noted that this microvascular impairment is acute, however, as four hours after a meal, microvascular function returns to baseline [18]. Postprandial hyperglycemia induces oxidative stress and pro-inflammatory responses, reducing the bioavailability of NO [19], which can contribute to explaining this phenomenon.

Although many studies have concluded on the deterioration of micro- and macrovascular function after food intake, other studies have shown that a meal does not affect skin microcirculation [20]. Some authors have even reported an increase in blood flow after a meal [21–24] or a standardized glucose load [25,26]. Several factors may explain these discrepancies between our results and theirs, such as the characteristics of the participants, the meal, and the use of insulin or glucose clamps.

It should also be noted that the techniques used (plethysmography, laser Doppler flowmetry, etc.) all result in



**Figure 2.** Skin blood flow (PU) and its determinants in response to local heating in men before and after food intake (A) Skin blood flow phases ( $p < .001$ ); temperature ( $p < .001$ ); meal ( $p = .007$ ); temperature  $\times$  phases ( $p < .001$ ); all other  $p > .40$ . (B) Velocity (VU) phases ( $p < .001$ ); temperature ( $p < .001$ ); meal ( $p < .001$ ); temperature  $\times$  phase ( $p < .001$ ); meal  $\times$  temperature ( $p = .001$ ); meal  $\times$  phase ( $p < .001$ ); temperature  $\times$  phase  $\times$  meal ( $p = .60$ ). (C) Concentration of moving blood cell (CU) phases ( $p < .001$ ); temperature ( $p = .006$ ); temperature  $\times$  phase  $\times$  meal ( $p < .001$ ), all other  $p > .16$ .



**Figure 3.** Skin blood flow (PU) and its determinants in response to local heating in women before and after the meal at 20°C (gray line) and at 31°C (black line).

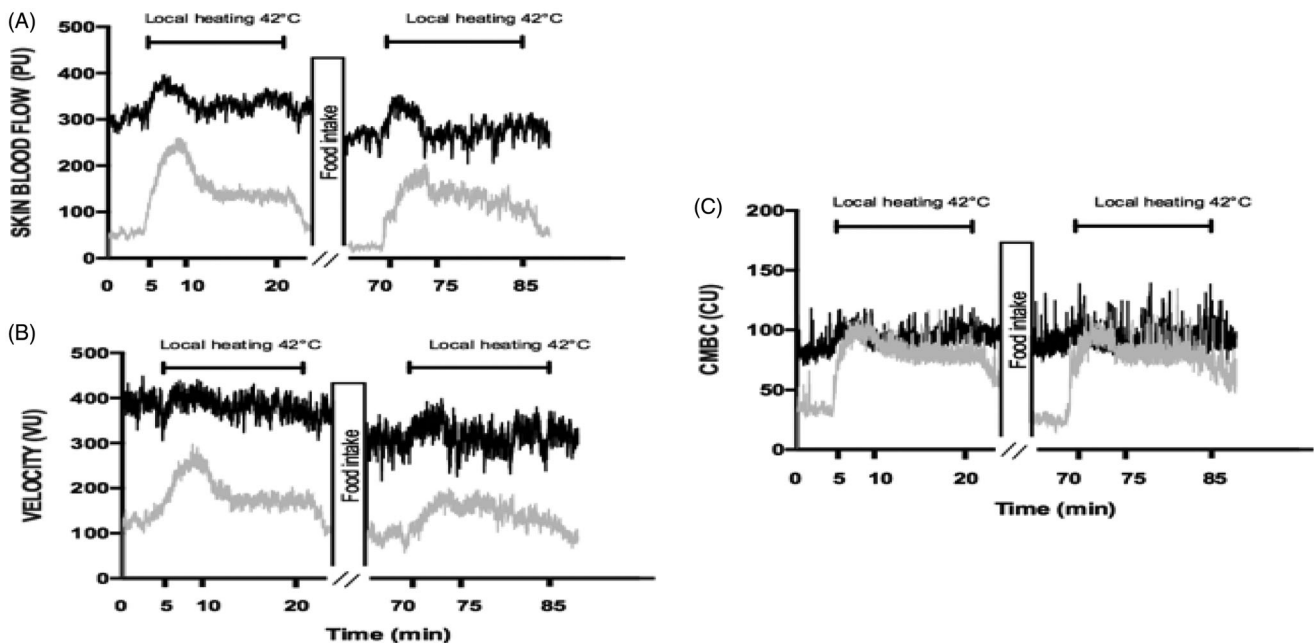


Figure 4. Skin blood flow (PU) and its determinants in response to local heating in men before and after the meal at 20°C (gray line) and at 31°C (black line).

different but equally relevant microcirculation information, providing potentially complementary results. Most studies that have observed an increase in postprandial blood flow have used plethysmography, a method based on evaluating venous and arterial volumes, and this technique has mainly been used in skeletal muscle, such as those of the forearm and calf, which comprise muscle, soft tissue and skin [21–24]. The postprandial state is a systemic metabolic condition with specific differential effects in the various vascular territories. Thus, it is not surprising that different techniques provide apparently divergent results that may, nevertheless, reflect a single reality.

It has been well documented under normal metabolic conditions that insulin stimulates the perfusion of skeletal muscle and subcutaneous adipose tissue through improved capillary recruitment, thereby increasing blood flow mainly after meal ingestion [26].

Overall, it seems that food intake coincides with a reduction in blood flow in the extremities in favor of splanchnic territories favorable to digestion and muscle for nutrient storage. In agreement with the literature, we demonstrated a decrease in fingertip skin blood flow. Thus far, the effects of food intake have only been studied without taking into account the effect of environmental temperature.

We showed that food intake in men affected skin blood flow in the warm environment. To the best of our knowledge, this is the first demonstration of such a phenomenon. The vascular impact of a meal has been widely described; however, all the studies were focused on the control climate. Only one study investigated the interaction between food intake and the effect of a hot temperature [14]. The authors concluded that thermotherapy, with the participants wearing a suit perfused with 50°C water, counteracts the effects of a fatty meal on microvascular function [14]. Others have also provided evidence in favor of controlled thermotherapy as a treatment to prevent vascular dysfunction. It would appear

that the physiological adaptations observed during physical activity are shared with passive heat exposure, as both increase the bioavailability of NO [27] and increase blood markers like heat shock proteins [28]. It is nevertheless essential to point out that this is a heat treatment dedicated to preventing and treating pathologies.

There is also evidence of the potentially deleterious effect of chronic heat exposure on carbohydrate metabolism, even in healthy subjects, one example being the recent study showing that carbohydrate metabolism was disrupted in this condition [29]. Since common glycoregulatory hormones and biomarkers do not explain the exaggerated increase in blood glucose in warm environmental temperature, it has been suggested that insulin resistance could develop in this condition [30]. In this regard, it would be interesting to investigate the contribution of microvascular function to this metabolic impairment.

In the women's group, an interaction effect between the environmental condition and food intake on SkBF was observed. The post-hoc analyses revealed that food intake affected SkBF only in the control environment and not in the warm condition, in which it remained unchanged from pre- to postprandial state.

Specific thermoregulatory responses during both exercise in hot environments and passive heat exposure have been reported [4,31], although the thermoregulation processes are substantially similar in women and men. In our study, the postprandial skin blood flow in women was unchanged from the pre-prandial SkBF in the warm condition, whereas it was decreased in the control environment. This suggests that in the heat, evacuation has the greatest physiological priority in women and it may even overcome digestion efficiency in warm environments.

The aim of this study was to investigate the microvascular function in control and warm environments in response to food intake. We described an unsurprising altered



postprandial microvascular function in the control environment. More complexity was observed in the warm environment. In men, the skin blood flow perfusion evolution from pre- to postprandial state was the same but with higher values. In women, the data suggested that thermoregulation is given priority, potentially to the detriment of glucose homeostasis.

## Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the author(s).

## ORCID

K. Reminy  <http://orcid.org/0000-0002-7636-261X>

S. Antoine-Jonville  <http://orcid.org/0000-0003-0691-2177>

## References

- [1] Charkoudian N. Skin blood flow in adult human thermoregulation: how it works, when it does not, and why. *Mayo Clin Proc.* 2003;78(5):603–612.
- [2] Johnson JM, Minson CT, Kellogg DL. Cutaneous vasodilator and vasoconstrictor mechanisms in temperature regulation. *Compr Physiol.* 2014;4(1):33–89.
- [3] Kenny GP, Sigal RJ, McGinn R. Body temperature regulation in diabetes. *Temperature.* 2016;3(1):119–145.
- [4] Gagnon D, Kenny GP. Does sex have an independent effect on thermoefactor responses during exercise in the heat? *J Physiol.* 2012;590(23):5963–5973.
- [5] Akanji AO, Oputa RN. The effect of ambient temperature on glucose tolerance. *Diabet Med.* 1991;8(10):946–948.
- [6] Dumke CL, Slivka DR, Cuddy JS, et al. The effect of environmental temperature on glucose and insulin after an oral glucose tolerance test in healthy young men. *Wild Environ Med.* 2015;26(3):335–342.
- [7] Faure C, Charlot K, Henri S, et al. Impaired glucose tolerance after brief heat exposure: a randomized crossover study in healthy young men. *Clin Sci.* 2016;130(12):1017–1025.
- [8] Del Pozzi AT, Miller JT, Hodges GJ. The effect of heating rate on the cutaneous vasomotion responses of forearm and leg skin in humans. *Microvasc Res.* 2016;105:77–84.
- [9] Minson CT, Berry LT, Joyner MJ. Nitric oxide and neurally mediated regulation of skin blood flow during local heating. *J Appl Physiol.* 2001;91(4):1619–1626.
- [10] Crandall CG, Wilson TE. Human cardiovascular responses to passive heat stress. *Compr Physiol.* 2015;5(1):17–43.
- [11] Rowell LB. 2011. Cardiovascular adjustments to thermal stress. In *Comprehensive Physiology* (p. 967–1023). New York: American Cancer Society.
- [12] Kellogg DL, Zhao JL, Friel C, et al. Nitric oxide concentration increases in the cutaneous interstitial space during heat stress in humans. *J Appl Physiol.* 2003;94(5):1971–1977.
- [13] De Marchi S, Prior M, Rigoni A, et al. Ascorbic acid prevents vascular dysfunction induced by oral glucose load in healthy subjects. *Eur J Intern Med.* 2012;23(1):54–57.
- [14] Harvey JC, Roseguini BT, Goerger BM, et al. Acute thermotherapy prevents impairments in cutaneous microvascular function induced by a high fat meal. *Journal of Diabetes Research.* 2016; 2016:1–11.
- [15] Rossi M, Lall K, Standfield N, et al. Impaired vasoconstriction of peripheral cutaneous blood flow in Type 1 diabetic patients following food ingestion. *Diabetic Med.* 1998;15(6):463–566.
- [16] Akbari CM, Saouaf R, Barnhill DF, et al. Endothelium-dependent vasodilatation is impaired in both microcirculation and macrocirculation during acute hyperglycemia. *Journal of Vascular Surgery.* 1998;28(4):687–694.
- [17] Kawano H, Motoyama T, Hirashima O, et al. Hyperglycemia rapidly suppresses flow-mediated endothelium-dependent vasodilation of brachial artery. *J Am Coll Cardiol.* 1999;34(1):146–154.
- [18] Zhu W, Zhong C, Yu Y, et al. Acute effects of hyperglycaemia with and without exercise on endothelial function in healthy young men. *Eur J Appl Physiol.* 2007;99(6):585–591.
- [19] Mah E, Noh SK, Ballard KD, et al. Postprandial hyperglycemia impairs vascular endothelial function in healthy men by inducing lipid peroxidation and increasing asymmetric dimethylarginine:arginine. *J Nutr.* 2011;141(11):1961–1968.
- [20] Napoli R, Guardasole V, Angelini V, et al. Food and red wine do not exert acute effects on vascular reactivity. *Metab Clin Exp.* 2004;53(8):1081–1086.
- [21] Eggleston EM, Jahn LA, Barrett EJ. Hyperinsulinemia rapidly increases human muscle microvascular perfusion but fails to increase muscle insulin clearance: evidence that a saturable process mediates muscle insulin uptake. *Diabetes.* 2007;56(12):2958–2963.
- [22] Fugmann A, Sarabi M, Karlström B, et al. Blood flow is an important determinant of forearm glucose uptake following a mixed meal. *Acta Diabetologica.* 2003;40(3):113–117.
- [23] Høost U, Kelbaek H, Rasmussen H, et al. Haemodynamic effects of eating: the role of meal composition. *Clin Sci.* 1996;90(4):269–276.
- [24] Mutter AF, Fullwood L, Hawkins M, et al. The integrated response of the cardiovascular system to food. *Digestion.* 1992;52(3–4):184–193.
- [25] Iredahl F, Högstedt A, Henricson J, et al. Skin glucose metabolism and microvascular blood flow during local insulin delivery and after an oral glucose load. *Microcirculation.* 2016;23(7):597–605.
- [26] Russell RD, Hu D, Greenaway T, et al. Oral glucose challenge impairs skeletal muscle microvascular blood flow in healthy people. *Am J Physiol-Endocrinol Metab.* 2018;315(2):E307–E315.
- [27] Brunt VE, Eymann TM, Francisco MA, et al. Passive heat therapy improves cutaneous microvascular function in sedentary humans via improved nitric oxide-dependent dilation. *J Appl Physiol.* 2016;121(3):716–723.
- [28] Iguchi M, Littmann AE, Chang S-H, et al. heat stress and cardiovascular, hormonal, and heat shock proteins in humans. *J Athl Train.* 2012;47(2):184–190.
- [29] Maley MJ, Hunt AP, Stewart IB, et al. Passive heating and glycaemic control in non-diabetic and diabetic individuals: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2019;14(3):e0214223.
- [30] Antoine-Jonville S, El Khoury D, Faure C, et al. Metabolic response to oral glucose tolerance test performed in neutral and warm environmental temperature. *Int J Hyperther.* 2019;36(1):624–631.
- [31] Gagnon D, Jay O, Lemire B, et al. Sex-related differences in evaporative heat loss: the importance of metabolic heat production. *Eur J Appl Physiol.* 2008;104(5):821–829.

***PUBLICATION 2***



# Strenuous exercise in warm environment is associated with improved microvascular function in sickle cell trait

K. Reminy<sup>1</sup> · E. T. Ngo Sock<sup>1</sup> · M. Romana<sup>2,4</sup> · P. Connes<sup>3,4</sup> · S. Ravion<sup>2</sup> · S. Henri<sup>1</sup> · O. Hue<sup>1</sup> · M. D. Hardy-Dessources<sup>2,4</sup> · S. Antoine-Jonville<sup>1,5</sup>

Received: 5 June 2021 / Accepted: 22 September 2021

© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2021

## Abstract

**Purpose** Sickle cell trait is characterized by the presence of both normal and abnormal haemoglobin in red blood cells. The rate of exertional collapse is increased in athletes and military recruits who carry the trait, particularly in stressful environmental conditions. The aim of the present study was to investigate microvascular function and its determinants in response to intense exercise at control and warm environmental temperatures in carriers (AS) and non-carriers (AA) of sickle cell trait.

**Methods** Nine AS and 11 AA, all healthy physically active young men, randomly participated in four experimental sessions (rest at 21 °C and 31 °C and cycling at 21 °C and 31 °C). All participants performed three exercises bouts as follows: 18-min submaximal exercise; an incremental test to exhaustion; and three 30-s sprints spaced with 20-s resting intervals.

**Results** Skin Blood Flow (SkBF) was similar at rest between AA and AS. SkBF for all participants was higher at 31 °C than 21 °C. It was significantly higher in the AS group compared to the AA group immediately after exercise, regardless of the environmental conditions. No significant differences in hemorheological parameters, muscle damage or cardiac injury biomarkers were observed between the two groups. Our data also suggest higher oxidative stress for the AS group, with high superoxide dismutase ( $P=0.044$  main group effect).

**Conclusion** A specific profile is identified in the AS population, with increased microvascular reactivity after maximal exercise in stressful environment and slight pro-/antioxidant imbalance.

**Keywords** Sickle cell trait · Cutaneous thermal hyperemia · Physical exercise

## Abbreviations

AI%	Aggregation index	CL <sup>-</sup>	Chlorine
AOPP	Advanced oxidation protein products	CPK	Creatine phosphokinase
CAT	Catalase	CPK-MB	Creatine phosphokinase –myoglobin
		GSH	Reduced glutathione
		GSSG	Oxidized glutathione
		HSP70	Heat shock protein 70
		LDH	Lactate dehydrogenase
		K <sup>+</sup>	Potassium
		MDA	Malondialdehyde
		MPO	Myeloperoxidase
		NO	Oxide nitric
		NT PROBNP	N-terminal pro-brain natriuretic peptide
		RBC	Red blood cell
		SCT	Sickle cell trait
		SKBF	Skin blood flow
		SOD	Superoxide dismutase

Communicated by Narihiko kondo.

✉ S. Antoine-Jonville  
sophie.antoine@univ-avignon.fr

<sup>1</sup> Adaptation To Tropical Climate and Exercise Laboratory, EA3596, University of the French West Indies, Pointe-à-Pitre, Guadeloupe, France

<sup>2</sup> UMR\_S1134, BIGR, University of the French West Indies, Pointe-à-Pitre, Guadeloupe, France

<sup>3</sup> (LIBM) EA7424, Biology and Red Blood Cell, Université Claude Bernard Lyon 1, Université de Lyon, Lyon, France

<sup>4</sup> Laboratoire d'Excellence du Globule Rouge (Labex GR-Ex), PRES Sorbonne, Paris, France

<sup>5</sup> LAPEC EA4278, Avignon University, 84000 Avignon, France



## Introduction

Sickle cell trait (SCT) is the heterozygous form of sickle cell anaemia characterized by the presence of normal haemoglobin A (HbA) and about 40% of abnormal haemoglobin S (HbS). It is usually considered an asymptomatic and benign condition. However, epidemiological studies on cohorts of U.S. army youth (Harmon et al. 2012; Kark et al. 1987; Nelson et al. 2018; Quattrone et al. 2015; Singer et al. 2018) and young athletes (Key et al. 2015; O'Connor et al. 2012) have reported serious events such as exertional rhabdomyolysis, sometimes resulting in death immediately after exercise in SCTs. Numerous case studies indicate high exercise intensity may present major risks of exercise collapse in the context of SCT (Hedreville et al. 2009; Quattrone et al. 2015; Singer et al. 2018). Particular attention should be paid to hot environmental conditions. Hemorheological disturbances may be accentuated by the effect of dehydration in these conditions.

Nevertheless, the mechanisms underlying these complications have not been clearly defined. Increased blood viscosity and slightly decreased red blood cell (RBC) deformability have been reported after exercise in SCT carriers in comparison with non-SCT carriers and it has been suggested that this specific blood rheological profile may impair blood flow through the microcirculation. Blood viscosity has been found to be further increased in SCT carriers when they exercise in hot conditions with water deprivation (Diaw et al. 2014; Tripette et al. 2010a, b) the contributions of enhanced coagulation activity, oxidative stress and inflammation have also been suspected in exertional collapse in SCT (Chirico et al. 2016). However, no direct evidence links the pathogenesis of exercise-related death to microvascular obstruction by rigid RBCs and/or highly viscous blood (Connes et al. 2006; Tripette et al. 2010a, b). Despite clear evidence of vascular alterations noted post-mortem in humans, no study has investigated the microvascular specificity of SCT carriers both at rest and after intense exercise, and more particularly in various ambient environmental temperatures. The aim of the present study was to compare the microvascular function and its determinants in response to intense exercise conducted in either control or warm environment between SCT carriers (AS) and controls (AA). The secondary purpose was to compare blood rheological, circulating muscle and cardiac damage biomarkers, and oxidative stress responses to exercise and environmental stress between the two groups.

## Materials and methods

### Participants

Twenty young men participated in this study after giving their informed consent: 9 SCT carriers (AS group,  $21 \pm 3$  years,  $182 \pm 6$  cm,  $76.2 \pm 6.9$  kg,  $23.1 \pm 1.9$  kg/m<sup>2</sup>) and 11 control participants (AA group,  $21 \pm 2$  years,  $181 \pm 7$  cm,  $73.8 \pm 9.5$  kg,  $22.4 \pm 2.4$  kg/m<sup>2</sup>). All participants were acclimated to tropical climate. To participate in this study, they had to have lived in the West Indies for at least 6 months. They regularly practiced athletic activities ( $12.0 \pm 2.1$  h/week). The exclusion criteria included any known chronic disease. They were informed of the study aims, requirements and risks before providing written informed consent. In this study, only men were selected as female and male hormones may be associated with differentiated skin blood flow responses (Charkoudian and Stachenfeld 2014; Reminy et al. 2020).

### Protocol

#### Study design

All participants completed four experimental sessions in randomized order with each session performed > 1 week apart. Experimental sessions consisted of two resting control sessions and two exercise sessions. Exercise and resting sessions were performed in both environmental temperatures. Blood samples were obtained exclusively during exercise sessions (warm and control). Participants were instructed to refrain from physical activity, alcohol, and caffeine for 24 h before each experimental session and were asked to replicate their dietary intake for 24 h before each session. We had data loss for some variables.

#### Pre-experimental procedures

All participants completed a familiarization session to the equipment's and the exercise protocol. For this session, they arrived in fasting state and anthropometric data were collected.

#### Exercise session

Exercise was performed on a leg cycle ergometer (Monark, Lc4 Stockholm, Sweden). The participants started the session with a submaximal exercise test at 75 W for 18 min, followed by an incremental exercise test where power was increased by 25 W every minute until exhaustion. The maximal power output (P<sub>max</sub>) was recorded. After 15 min of

recovery, three 30-s sprints at 200% of Pmax and separated by 20 s of passive recovery were performed by each participant. Heart rate (M400, Polar Electro, Kempele, Finland) and gas exchanges (Metalyzer ® 3B, Cortex Biophysik GmbH, Germany) were measured during the exercise test. Hydration was controlled during the entire study (4-ml water/kg body mass/intake after warm-up, maximal exercise and sprints).

Data on body composition and body mass were collected by bioelectrical impedance analysis using an InBody 720 analyser with InBody 3.0 software (BioSpace, Seoul, South Korea). Tympanic temperature was measured with a digital ear thermometer (Omron Gentle Temp 520) in all experimental sessions. Systolic and diastolic blood pressures (BP) were measured with a tensiometer (Omron M6, Healthcare Co., Ltd., Kyoto, Japan) during each experimental session. Blood pressure and tympanic temperature were measured before and after exercise protocol.

### Environmental conditions

All participants completed four trials under two environmental conditions in a temperature-controlled room: control at 21 °C and warm at 31 °C, all at > 60% relative humidity. Environmental conditions were controlled with the wet bulb globe temperature (Delta Ohm, Padova, Italia) during all experimental sessions.

### Biochemical analysis

Plasma chlorine (Cl<sup>-</sup>), sodium (Na<sup>+</sup>) and potassium (K<sup>+</sup>) concentrations were measured with an ADVIA 1200/1800 electrolyte analyzer, and the alkaline reserve by enzymatic method. Several markers of muscle damage were also followed namely creatine phosphokinase and lactate dehydrogenase.

Creatine phosphokinase (CPK, ng/mL) was determined according to the method of IFCC (1980), measured using the ADVIA 1800 clinical chemical analyzer. Serum lactate dehydrogenase (LDH, U/L) was determined using the pyruvate/NADH ratio measured by the ADVIA 1200/1800 (Siemens Healthcare Diagnostics, Eschborn, Germany).

Biomarkers of cardiac injury were investigated: troponin (ng/mL), myoglobin (ng/mL), n-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP, pg/ml) and creatine phosphokinase (CPK-MB) were determined by commercial chemiluminescence assays for ADVIA Centaur (Siemens Medical Solutions Diagnostics, Fernwald, Germany).

Blood lactate was drawn at rest and directly after the exercise protocol from the fingertip and analyzed on the Lactate Pro 2 (AKRAY Europe, Amstelveen, the Netherlands), a handheld point-of care analyzer that operates by enzymatic amperometric detection.

## Haemoglobin electrophoresis test

To verify AS and AA genotypes, blood samples were collected in EDTA tubes at rest and screened by isoelectric focusing. The results were confirmed by citrate agar electrophoresis. Positive test results for SCT were determined by the presence of HbS (< 40%) and a normal percentage of other haemoglobin.

## Hemorheological measurements

All hemorheological measurements were carried out within 1–2 h of the venipuncture, following the guidelines for international standardization in blood rheology techniques/measurements.

Blood viscosity was determined at native hematocrit, 25 °C and several shear rates: 11.25, 22.5, 45, 90 and 225 s<sup>-1</sup> using a cone/plate viscometer (Brookfield DVII + with CPE40 spindle, Brookfield Engineering Labs., Natick, MA, USA). Red blood cell (RBC) deformability was determined at 37 °C at two shear stresses (0.30 and 30 Pa) by laser diffraction (ecktaometry), using the Laser-assisted Optical Rotational Cell Analyzer (LORCA, RR Mechatronics, Hoorn, The Netherlands). RBC aggregation was determined at 37 °C via syllectometry, i.e., laser backscatter vs. time, using the LORCA after adjustment of hematocrit to 40%, and was reported as the aggregation index AI (%). The RBC disaggregation threshold ( $\gamma_{thr}$ , in s<sup>-1</sup>), i.e., the strength/robustness of RBC aggregates, was determined using a reiteration procedure.

## Oxidative stress markers

*Plasma pro-oxidative markers* Plasma aliquots obtained from EDTA samples were stored at - 80 °C until analysis. Plasma advanced oxidation protein products (AOPP) concentration was determined using a semi-automated method and the AOPP assay kit (OxiSelect™ AOPP Assay Kit, Cell Biolabs, Inc.) (Witko-Sarsat et al. 1996). Plasma malondialdehyde (MDA) level was determined using a method based on thiobarbituric acid (TBA) reactions and formation of MDA-TBA adducts quantified fluorometrically (Ex/Em = 532/553 nm) (ab118970 Assay Kit, Abcam®). Plasma myeloperoxidase (MPO) protein levels were quantified by ELISA technique (ab119605 Kit, Abcam®). Plasma nitrotyrosine, evaluated through the end product of protein nitration induced by peroxynitrite, was measured by Elisa (av210603 Kit, Abcam®). Plasma nitric oxide (NO) end products were determined after the enzymatic conversion of nitrate to nitrite by nitrate reductase and the colorimetric detection of nitrite using the Griess method (ADI-917-020 Kit, Enzo). Plasma heat shock protein 70 (HSP70) was measured with

the high-sensitivity ENZ-KIT-101 Kit (Enzo) according to the manufacturer's instructions.

**RBC antioxidant defence** RBC pellets from citrate blood samples were treated with four volumes of an aqueous solution containing 5% metaphosphoric acid, and the lysates obtained from 50  $\mu$ l of RBCs were stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until assay. The colorimetric measurement of reduced (GSH) and oxidized (GSSG) RBC glutathione is based on the reaction of the sulfhydryl group of GSH with Ellman's reagent, giving a yellow-colored product (ADI-900-160 Kit, Enzo).

RBC pellets from EDTA blood samples were lysed in four volumes of ice-cold water. The lysates' aliquots were stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until they were used for the assessment of the enzymatic antioxidant defence through RBC superoxide dismutase (SOD) and catalase (Cat) activities. RBC SOD activity was determined by a colorimetric assay based on its ability to scavenge superoxide radicals generated by xanthine oxidase and hypoxanthine, which form a colorimetric reaction in the presence of a tetrazolium salt (Kit 706002, Cayman Chemical). RBC catalase activity was also determined by a colorimetric assay based on the formation of a colored formaldehyde induced by the reaction of catalase with methanol in the presence of a chromogen (707002 Kit, Cayman Chemical).

### Skin blood flow

Skin blood flow (SkBF) and microvascular reactivity response to local heating protocol were measured by laser Doppler flowmetry using the Periflux System 5000 (Perimed, Järfälla, Sweden) and its associated software Perisoft, which enables continuous SkBF recording. A temperature-controlled skin probe was attached to a distal finger pad with adhesive tape.

The skin temperature was obtained through the probe of the device and was raised locally to  $42^{\circ}\text{C}$  at a rate of  $0.1^{\circ}\text{C/s}$ . This protocol induces a biphasic increase in SkBF: (1) a rapid increase with a peak (peak phase) reached within the first 5 min of local heating, which is related to axon reflex, and (2) a prolonged plateau (plateau phase), which appears 20–25 min after the beginning of the hyperthermic stimulus and is mainly induced by NO production.

For resting sessions, SkBF was measured for 45 min: 5 min without local heating (baseline and post heating) and 35 min during local heating. For exercise sessions, SkBF was measured after the exercise protocol for 10 min: 5 min baseline and 5 min under local heating.

Laser Doppler blood flow (perfusion unit, recorded in mV) was divided by the individual mean arterial pressure (MAP) and expressed as cutaneous vascular conductance (CVC, mV/mm Hg).

The signal was processed as follows: the baseline corresponds to the SkBF without heating for 5 min out of the

10-min measurement). The two responses to local hyperthermia: (1) peak max value over the first 5 min and (2) plateau average over the last 10 min of local hyperthermia. SkBF was averaged point by point (6 Hz) over the entire recording for all AAs and all ASs.

### Statistical analyses

Analyses of variance (ANOVA) with repeated measures were performed on SkBF. Resting and exercise sessions were analyzed separately with group (AA, AS) as the between-subject variable. Pre-post exercise (two levels: T0 and T50), environmental condition ( $21^{\circ}\text{C}$ ,  $31^{\circ}\text{C}$ ) and phases (baseline, peak and plateau) were used as within-subject variables when required.

ANOVAs with repeated measures were performed on all laboratory measurements (biochemical, oxidative stress and hemorheological parameters), blood pressure, heart rate and tympanic temperature with group (AA, AS) as the between-subjects variable, and pre-post exercise (two levels: T0 and T50), and environmental conditions ( $21^{\circ}\text{C}$ ,  $31^{\circ}\text{C}$ ) as the within-subjects variable. ANOVAs were applied to oxygen uptake and maximal power ( $P_{\text{max}}$ ) with group (AA, AS) as the between-subjects variable, and environmental condition ( $21^{\circ}\text{C}$ ,  $31^{\circ}\text{C}$ ) as the within-subjects variables.

Data were tested for sphericity using Mauchly's test and if the assumption of sphericity was violated, the Greenhouse–Geisser correction was undertaken to adjust the degrees of freedom. Tukey's post hoc tests were performed to identify mean differences among conditions when group  $\times$  temperature  $\times$  time interaction was significant.

All results were analyzed with the SPSS 23 software package (SPSS Inc, Chicago, IL, USA). Statistical significance was set at  $P < 0.05$ . Unless otherwise stated, data are presented as mean  $\pm$  SD.

## Results

### Physiological responses to exercise and plasma ion concentration did not differ between AA and AS and were affected in the same way by warm environment

As shown in Table 1, heart rate, blood pressure and skin temperature at rest and maximal exercise, and performance ( $P_{\text{max}}$ ) parameters did not differ between the two groups in response to exercise.

No complications were observed during the experimental sessions. During and after exercise, tympanic temperature was affected by environmental condition ( $P < 0.001$ ) with higher values in a warm environment than control for all

**Table 1** Haemodynamic parameters at rest and exercise in two environmental conditions (21 °C/31 °C) for AA and AS groups

Parameters	AS	AA	Group	Condition	Group x condition
Heart rate (beats/min) at rest 21 °C <i>n</i> = 5/9	62 (9)	60 (9)	0.385	0.230	0.210
Heart rate (beats/min) at rest 31 °C <i>n</i> = 5/9	67 (10)	60 (9)			
Heart rate max (beats/min) 21 °C <i>n</i> = 8/10	177 (17)	180 (10)	0.434	0.778	0.778
Heart rate max (beats/min) 31 °C <i>n</i> = 8/10	177 (11)	182 (10)			
Mean arterial pressure (mmHg) at rest 21 °C	89 (5)	88 (7)	0.521	0.417	0.289
Mean arterial pressure (mmHg) at rest 31 °C	88 (6)	91 (6)			
Mean arterial pressure (mmHg) post-exercise 21 °C	92 (8)	92 (9)	0.890	0.531	0.807
Mean arterial pressure (mmHg) post-exercise 31 °C	90 (7)	89 (15)			
Skin temperature (°C) at rest 21 °C	26.7 (4.9)	29.1 (3.7)	0.489	<0.001	0.034
Skin temperature (°C) at rest 31 °C	35.1 (1.1)	33.9 (1.9)			
Skin temperature (°C) post-exercise 21 °C	30.9 (1.8)	29.7 (3.4)	0.545	<0.001	0.217
Skin temperature (°C) post-exercise 31 °C	35.7 (0.3)	36.1 (0.7)			
$\dot{V}O_2$ max (ml min <sup>-1</sup> kg <sup>-1</sup> ) 21 °C	36.1 (5.7)	36.1 (7.8)	0.967	0.879	0.919
$\dot{V}O_2$ max (ml min <sup>-1</sup> kg <sup>-1</sup> ) 31 °C	36.3 (4.4)	35.8 (5.7)			
Maximal aerobic power (W) 21 °C	248 (31)	258 (53)	0.563	0.517	0.980
Maximal aerobic power (W) 31 °C	243 (29)	252 (37)			

group. During the resting and exercise sessions, there was no significant single group effect or group-related interaction effect ( $P=0.715$ ) with the exception of skin temperature, which was higher at rest at 31 °C in AS as compared with AA in the condition.

The plasma concentration of  $Cl^-$ ,  $Na^+$ , and  $K^+$  and the alkaline reserves (Table 2) did not present significant change between AA and AS ( $P>0.593$ ). The plasma concentration of  $Cl^-$ ,  $K^+$  and the alkaline reserves decreased after exercise tests ( $P<0.002$ ), but to the same extent in the AA and AS groups (no significant interaction).  $Cl^-$  plasma concentrations were lower at 21 °C than at 31 °C for both groups.

Blood lactate concentration Fig. 2.H was affected by exercise ( $P<0.001$ ) with higher values after exercise in the two conditions for the two groups. The environmental conditions did not affect blood lactate ( $P=0.176$ ). For blood lactate concentration, only the condition x time interaction was significant ( $P=0.007$ ). There was no significant single group effect or group-related interaction effect (all  $P>0.167$ ).

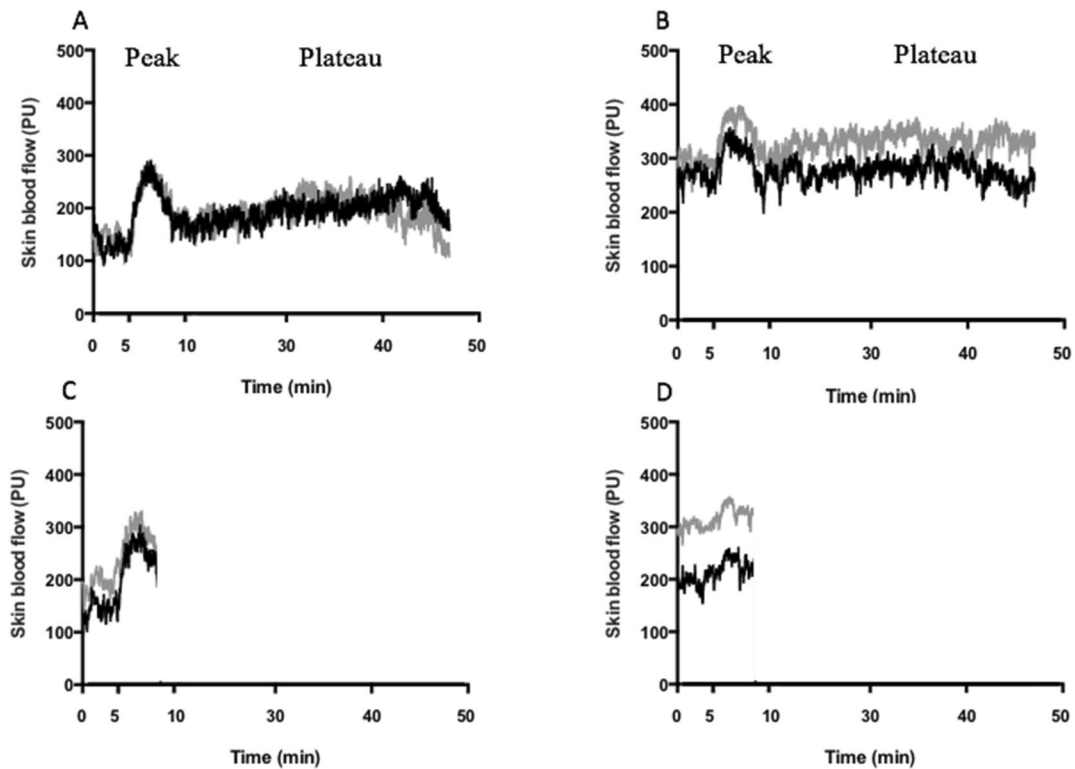
### Microvascular reactivity was higher in AS after exercise

The results are summarized in Fig. 1 at rest (A and B) and after exercise (C and D). At rest, SkBF was no different between the two groups in response to the local heating protocol ( $P=0.452$ ). A simple effect of phase (baseline, peak and plateau) was observed, characterizing the reactivity to local heat ( $P<0.001$ ) for both groups. SkBF was higher at 31 °C than at 21 °C. The phase x environmental condition interaction was significant ( $P=0.030$ ), with marked variations between baseline peak and plateau at 21 °C. These variations were independent of the group (no other significant interaction involving the group were significantly different, all  $P>0.780$ ). A similar profile is reported after arterial pressure normalization (CVC results provided in table supplement data).

After the exercise tests, SkBF was different between the two groups (simple group effect:  $P=0.019$ ) with greater values found in the AS group. The simple effect of phase

**Table 2** Biochemical parameters pre-exercise (T0) and post-exercise (T50) at 21 °C and at 31 °C in two groups

	21 °C		31 °C		<i>P</i> values		
	Pre-exercise	Post-exercise	Pre-exercise	Post-exercise	Condition	Time	Group
Sodium (mEq/L)							
AS <i>n</i> =9	140 (2)	140 (2)	140 (1)	141 (2)	0.681	0.124	0.971
AA <i>n</i> =11	140 (1)	141 (2)	140 (1)	141 (2)			
Potassium (mEq/L)							
AS <i>n</i> =9	4.7 (0.5)	4.1 (0.3)	4.6 (0.3)	4.2 (0.2)	0.696	<0.001	0.593
AA <i>n</i> =11	4.6 (0.5)	4.2 (0.5)	4.6 (0.3)	4.0 (0.2)			
Chlorine (mEq/L)							
AS <i>n</i> =9	103 (2)	101 (2)	104 (2)	103 (2)	0.006	0.002	0.987
AA <i>n</i> =11	103 (2)	102 (1)	104 (2)	103 (2)			
Alkaline reserve (mmol/L)							
AS <i>n</i> =9	30 (3)	18 (4)	29 (3)	17 (3)	0.757	<0.001	0.699
AA <i>n</i> =11	30 (2)	17 (4)	30 (2)	17 (3)			

Values are mean  $\pm$  SD**Fig. 1** Average plotting of skin blood flow (PU) at rest and after exercise in AA group (black line) and AS group (gray line), SkBF at 21 °C at rest (A) and SkBF at 31 °C at rest (B) SkBF at 21 °C post-exercise (C) and SkBF at 31 °C post-exercise (D)

between baseline and peak was significant ( $P < 0.001$ ). The phase  $\times$  environmental condition interaction effect was significant ( $P < 0.001$ ), with marked variations between baseline and peak at 21 °C but not at 31 °C. No other interactions were significant ( $P > 0.229$ ).

### **Exercise increased and warm environment decreased blood viscosity but AA and AS were not different**

Hematocrit, blood viscosity at all shear rates, RBC aggregation, and disaggregation threshold, and deformability (EI 0.30, 30) were not different between the groups (Table 3) (all  $P > 0.108$ ).

For all groups, hematocrit, blood viscosity at all shear rates, and the aggregation index (AI) values were significantly higher after exercise than at rest (all  $P < 0.011$ ).

Blood viscosity at 45, 90 and 225 s<sup>-1</sup> was lower at 31 °C for both groups compared to 21 °C (all  $P > 0.043$ ). For blood viscosity at 90 s<sup>-1</sup>, the condition  $\times$  group interaction was significant ( $P = 0.039$ ), with higher viscosity at 90 s<sup>-1</sup> in AS at 21 °C compared to 31 °C, while viscosity was unchanged by the environmental temperature in AA. No other interactions were significant (all  $P > 0.099$ ).

### **Markers of rhabdomyolysis and cardiac injury were affected by exercise but did not differ between AA and AS in either environment**

None of the biomarkers used to identify cardiac injury and muscle damage (Fig. 2A–G) were significantly different between AA and AS groups (all  $P = 0.187$ ). Exercise increased CPK, CPK-MB and NT-proBNP ( $P < 0.001$ ,  $P < 0.001$ ,  $P = 0.035$ , respectively). CPK, LDH and myoglobin ( $P = 0.042$ ,  $P = 0.013$ ,  $P = 0.012$ , respectively) were lower at 31 °C than at 21 °C. The time  $\times$  group interaction effect was observed for CPK ( $P = 0.023$ ), with higher CPK values in AA after exercise compared to before exercise, while CPK values remained unchanged in AS.

### **Markers of oxidative stress were affected by the group regardless of environmental conditions**

The concentrations of the pro-oxidative markers, AOPP, MPO, MDA, nitrotyrosine, Hsp70, NO, (Fig. 3 and 4) were not different between the two groups (all  $P > 0.187$ ).

For both groups, nitrotyrosine and Hsp70 (Fig. 3) concentration were increased after exercise ( $P < 0.001$ ,  $P = 0.014$ , respectively). Exercise did not affect the other parameters (all  $P > 0.101$ ). The condition  $\times$  group interaction was significant ( $P = 0.049$ ) for MPO concentration. Concerning antioxidant status, SOD was higher ( $P = 0.044$ ) while catalase

was lower ( $P = 0.024$ ) for the AS group compared to the AA group (Fig. 4). The environmental conditions (21 °C/31 °C) did not affect any of the measured biomarkers. All other interactions were not significant (all  $P > 0.068$ ).

## **Discussion**

The present study investigated the microvascular function at rest and after maximal exercise at 21 °C and 31 °C for both AS and AA groups. The major results are: (1) the skin blood flow response was normal in AS at rest and control environment (21 °C), but increased in warm environment (31 °C); (2) after maximal exercise, the microvascular dilatation was higher in the AS group compared to the AA group; (3) higher superoxide dismutase and lower catalase antioxidant activity suggested a disorder in oxidative homeostasis for the AS group; and (4) the AS group was comparable to the AA group concerning markers of muscle damage and blood rheology after exercise.

### **AS and AA were affected in the same way by exercising warm environment with regards to cardiovascular responses, electrolytes, cardiac and muscle injury biomarkers**

Previous studies have emphasized specific aspects of physical ability and/or physiological responses to exercise in AS participants. This was not the main objective here, but the results of the present study did not evidence any difference between AA and AS for exercise power or heart rate measures during exercise. Although there are some controversies, similarities have been demonstrated between AA and AS in physical fitness and cardiovascular adaptations to exercise by previous studies from our group (Marlin et al. 2008; Sara et al. 2006), as well as others (Bilé et al. 1996). In addition, we report that lactate was increased after exercise in the same way for both groups and regardless of the environmental condition.

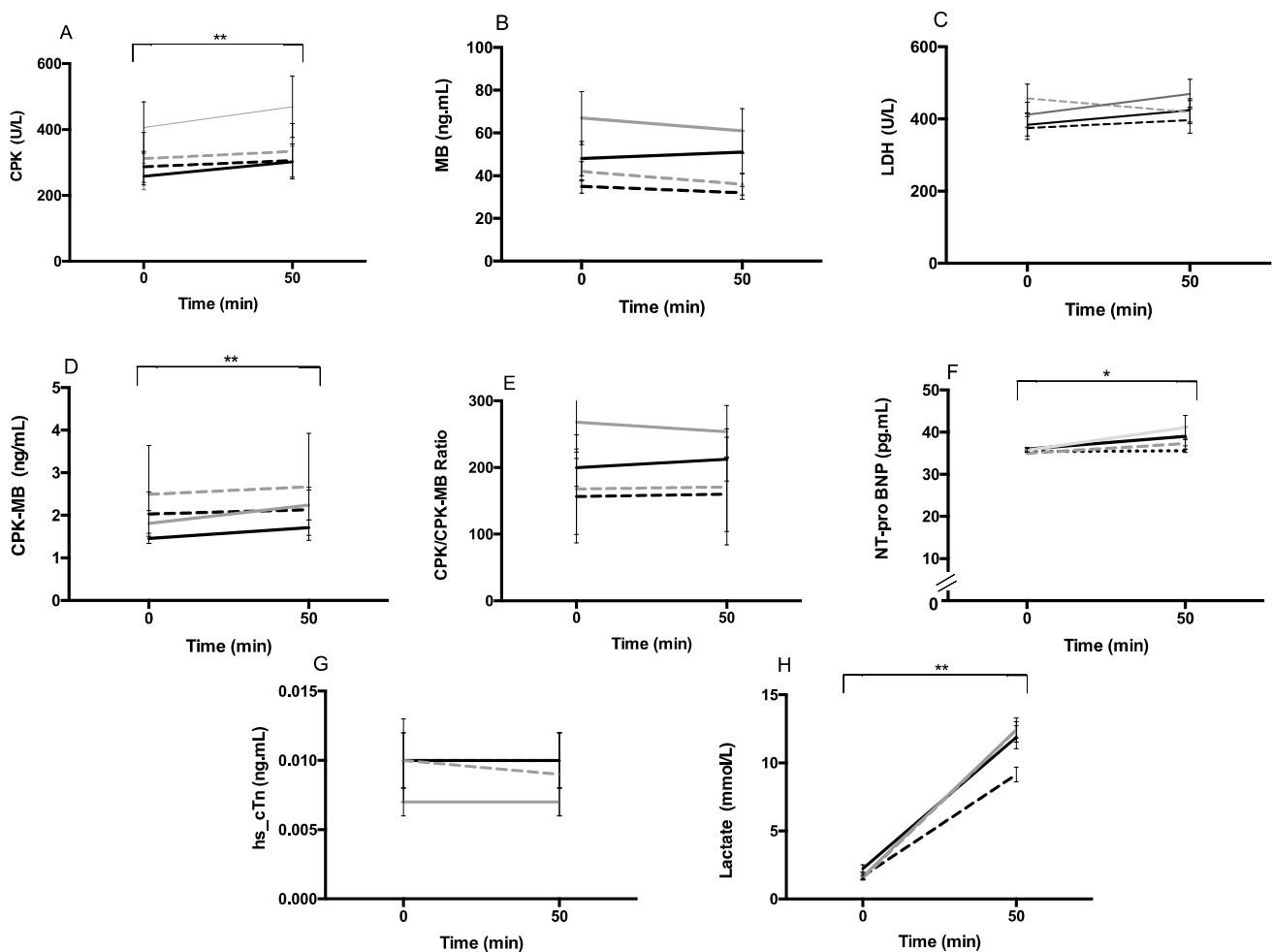
Exercise-induced rhabdomyolysis is a clinical and biochemical syndrome. It may lead to acute renal failure caused by myoglobinuria and, ultimately, death (Zimmerman and Shen 2013). Numerous case reports have described this type of complication in SCT carriers after exercise (Buchanan et al. 2020; Hedreville et al. 2009; Quattrone et al. 2015; Saxena et al. 2016). There were no overt clinical or biological signs of rhabdomyolysis and electrolyte imbalance among our cohort. CPK concentration was increased normally after maximal exercise without a significant group-related effect. The variations we reported with exercise are known to occur in trained and healthy individuals after intense exercise (Pedersen et al. 2019) and in AS athletes after submaximal (Messonnier et al. 2012) or maximal

**Table 3** Hematocrit, blood viscosity, red blood cell deformability, and aggregation and disaggregation parameters pre-and post-exercise in two environmental conditions in two groups

	21 °C		31 °C		P values		
	Pre-exercise	Post-exercise	Pre-exercise	Post-exercise	Condition	Time	Group
<b>Hematocrit (%)</b>							
AS <i>n</i> =9	46.7 (2.6)	49.1 (3.2)	46.1 (2.3)	48.1 (2.7)	0.054	<0.001	0.309
AA <i>n</i> =11	47.5 (2.8)	50.8 (2.6)	46.6 (2.8)	49.7 (3.1)			
<b>Blood viscosity (cP; 11.25 s<sup>-1</sup>)</b>							
AS <i>n</i> =9	15.8 (3.7)	17.0 (4.5)	13.9 (2.0)	16.6 (5.5)	0.043	0.007	0.158
AA <i>n</i> =11	13.6 (2.2)	16.2 (3.7)	12.8 (2.5)	14.0 (2.4)			
<b>Blood viscosity (cP; 22.5 s<sup>-1</sup>)</b>							
AS <i>n</i> =9	12.6 (3.3)	13.7 (4.0)	10.8 (1.6)	12.7 (2.4)	0.137	0.010	0.300
AA <i>n</i> =11	10.5 (2.0)	12.3 (2.5)	11.1 (2.6)	11.7 (3.0)			
<b>Blood viscosity (cP; 45 s<sup>-1</sup>)</b>							
AS <i>n</i> =9	10.6 (1.9)	11.6 (2.6)	9.3 (1.2)	10.6 (2.0)	0.032	0.011	0.159
AA <i>n</i> =11	9.1 (1.5)	10.3 (2.0)	9.1 (1.8)	9.7 (1.8)			
<b>Blood viscosity (cP; 90 s<sup>-1</sup>)</b>							
AS <i>n</i> =9	8.8 (1.2)	9.2 (1.6)	7.5 (1.1)	8.6 (1.4)	0.013	0.003	0.137
AA <i>n</i> =11	7.3 (1.1)	8.3 (1.3)	7.5 (1.0)	8.0 (1.3)			
<b>Blood viscosity (cP; 225 s<sup>-1</sup>)</b>							
AS <i>n</i> =9	6.8 (0.7)	7.4 (1.0)	6.2 (0.6)	7.0 (1.0)	0.011	<0.001	0.501
AA <i>n</i> =11	6.3 (0.8)	7.2 (0.9)	6.2 (0.6)	6.9 (0.8)			
<b>AI (%)</b>							
AS <i>n</i> =9	62.7 (7.1)	64.0 (7.3)	60.8 (8.6)	62.5 (7.0)	0.282	0.005	0.782
AA <i>n</i> =10	60.2 (6.7)	65.3 (5.9)	59.2 (3.5)	65.3 (3.6)			
<b>RBC disaggregation threshold</b>							
AS <i>n</i> =9	131 (32)	121 (28)	129 (49)	122 (33)	0.338	0.802	0.108
AA <i>n</i> =10	106 (20)	119 (30)	101 (28)	100 (22)			
<b>RBC deformability at 0.30 Pa (a.u)</b>							
AS <i>n</i> =9	0.08 (0.02)	0.08 (0.02)	0.08 (0.02)	0.07 (0.01)	0.553	0.061	0.361
AS <i>n</i> =9	0.09 (0.02)	0.09 (0.02)	0.09 (0.02)	0.09 (0.02)			
<b>RBC deformability at 30 Pa (a.u)</b>							
AS <i>n</i> =9	0.60 (0.03)	0.60 (0.02)	0.60 (0.02)	0.60 (0.01)	0.771	0.583	0.934
AS <i>n</i> =9	0.61 (0.02)	0.60 (0.02)	0.60 (0.02)	0.59 (0.03)			

Values are mean  $\pm$  SD, RBC (red blood cell), AI (RBC aggregation index) and *Y* at dISC (RBC disaggregation threshold)





**Fig. 2** : Rhabdomyolysis and cardiac injury markers and lactate pre-exercise (T0) and post-exercise (T50) in AA group (solid line) and AS group (dashed line) at 21 °C (gray line) and at 31 °C (black line). Values are mean  $\pm$  SEM. \* $P < 0.05$  vs. T0; \*\* $P < 0.001$  vs T0

exercise (Gozal et al. 1992). Our results also showed that there was no cardiac injury. CPK-MB and NT-proBNP were higher after exercise but remained in the normal range. There was no difference between AA and AS for rhabdomyolysis or cardiac injury markers. This is the first study that provides information on these biomarkers after intense exercise in a warm environment in AS subjects.

### Specific microvascular reactivity in AS and potential explanations

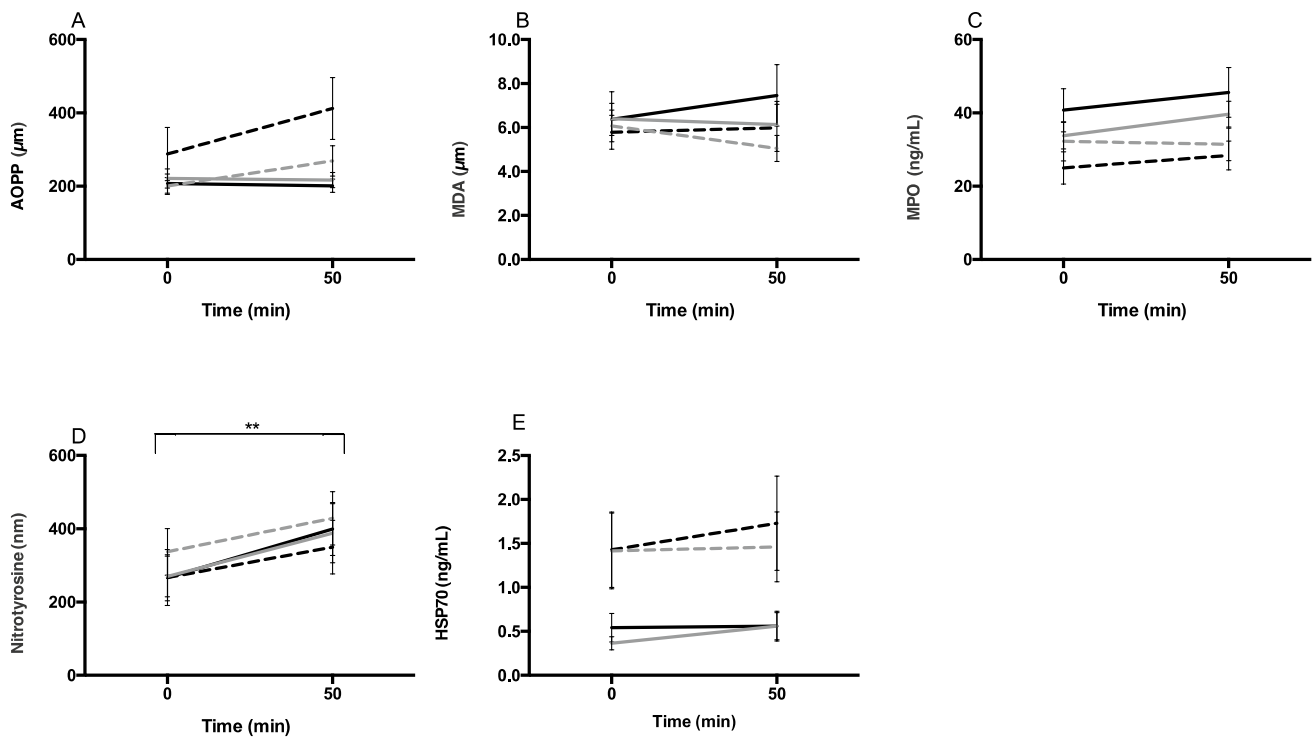
Recent studies in mice and human models of SCT support the presence of macrovascular and microvascular dysfunction (Diaw et al. 2015; Skinner et al. 2019, 2020). The microvascular function has not been deeply investigated in response to exercise in human with SCT. In this study, only measurements from glabrous skin were performed, which constitutes a limitation. It however provides valuable information on overall tissular perfusion and thermoregulatory

mechanisms due to its singular structure (anastomoses and volume/surface ratio of capillaries) (Walløe 2015). Moreover, contrary to the forearm measurement, often used as a substitute for non-glabrous skin, the reproducibility is strong. This is an important point for this study containing several experimental sessions (Roustit et al. 2010).

We showed that SkBF and microvascular reactivity were not different between SCT and non-SCT carriers at rest regardless of environmental condition. However, we observed a greater ability of skin microvessels to dilate in response to local heating after exercise in the SCT participants. While cases of fatal events reported in SCT carriers would suggest an involvement of the microcirculation, our results do not support a systematically deleterious role of microvascular function in the physiological adaptations to exercise in SCT carriers.

In the present study, the strenuous exercise was followed by an increase in viscosity for both groups. This adaptation is well described in the literature, both in healthy subjects





**Fig. 3** Responses of blood concentration of **A** Advanced oxidation protein products AOPP, **B** malondialdehyde MDA (µM), **C** myeloperoxidase MPO (ng/mL), and **D** nitrotyrosine (ng/mL) and Heat shock protein 70 Hsp70 (ng/mL) (**E**), pre-exercise (T0) and post-exercise

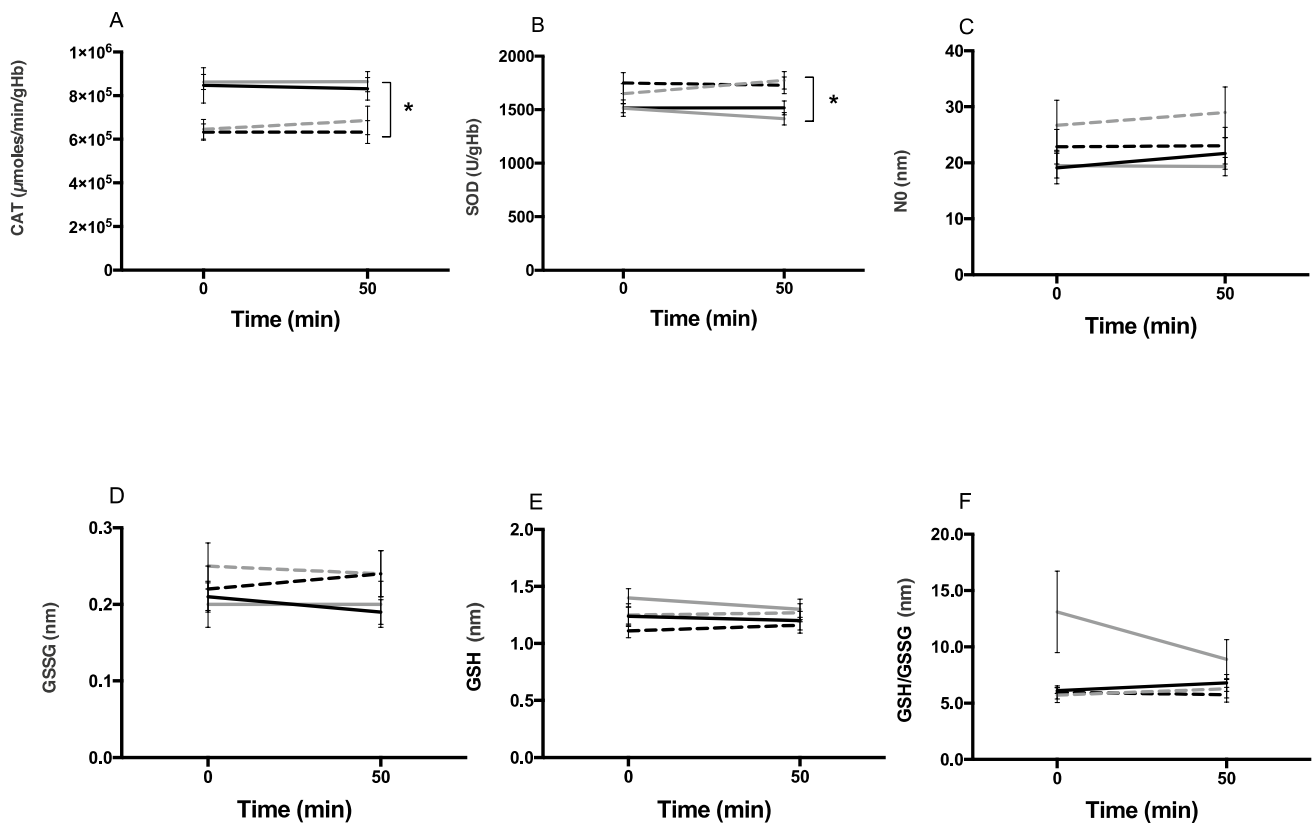
(T50) in AA group (solid line) and AS group (dashed line) at 21 °C (gray line) and 31 °C (black line). Values are mean ± SEM. \* $P < 0.05$  vs. T0 \*\* $P < 0.001$  vs. T0

(Nader et al. 2019) and SCT carriers, and is mainly due to the changes in hematocrit and RBC aggregation. No significant differences were observed between AA and AS participants at rest or after exercise regardless of the environmental condition. This finding could seem surprising as several studies reported higher blood viscosity in AS than in AA both at rest (Tripette et al. 2009) and in response to exercise (Connes et al. 2006). One explanation might be that the participants in this study followed a strict hydration protocol, which might have corrected the hemorheological alterations described in SCT carriers, as previously reported (Diaw et al. 2014; Tripette et al. 2010a, b). In addition, RBC deformability, a strong contributor to blood viscosity, was not impacted by SCT. Enhanced oxidative stress has been shown to cause a decrease in RBC deformability in sickle cell disease (Hierso et al. 2014). The oxidative stress/antioxidant profile was rather similar between AA and AS at rest and after exercise, and the plasma NO concentration remained unchanged after exercise. This could explain the lack of difference in RBC deformability between the two groups, confirming previous findings (Tripette et al. 2010a, b). The lack of difference in blood viscosity and other RBC rheological parameters between AA and AS at rest and after exercise in both environments, associated with the greater vasodilation in AS in warm environment, would have

resulted in normal organ perfusion and oxygen delivery. This would explain why the AS group did not show any biological or clinical signs of cardiac or muscle injury. Subsequently, plasma NO and RBC rheological parameters were probably not importantly involved in the improved microvascular function in the AS participants after exercise.

Concerning antioxidant defences, the SOD level was higher in AS compared to AA. In agreement relatively with earlier this results (Das et al. 1993). Generally, intensive exercise increases SOD activity in healthy young subjects and regular exercise attenuates ROS production. In our study, SOD activity remained unchanged after exercise for the AA group. All subjects in this study were in acceptable physical condition. On the other hand, the observation that SOD activity was higher in the AS subjects may be explained by the presence of haemoglobin S (< 39%), which accelerates heme autoxidation (Alayash 2018; Hebbel et al. 1988). This could lead to an increase in the antioxidant defences, particularly SOD activity prior to exercise. Indeed, SOD is a first-line antioxidant enzyme that can counteract the overproduction of intracellular ROS that can then be found in the extracellular environment (Ighodaro and Akinloye 2018; Wang et al. 2018).

These results suggest a higher oxidative stress in the AS RBCs has observed previous studies Das et al. 1993. Das



**Fig. 4** Responses of antioxidants **A** catalase CAT ( $\mu\text{moles}/\text{min}/\text{gHb}$ ), **B** superoxide dismutase SOD (U/gHb), **C** oxide nitric NO (umol/L), **D** GSSG (nM), **E** GSH (nM) and **F** Glutathione Ratio (nM), pre-exer-

cise (T0) and post-exercise (T50) in AA group (solid line) and AS group (dashed line) at 21 °C (gray line) and at 31 °C (black line). Values are mean  $\pm$  SEM.  $P < 0.05$  vs. AA

et al. et al. (1993) they also observed a higher SOD activity in AS RBCs with a reduced activity of other anti-oxidant enzymes such as GPx. They suggested that the increase in SOD was probably induced by the release of RBCs sequestered in the spleen, since the increase in free radicals has the effect of deactivating SOD and that synthesis is unlikely in mature erythrocytes. However, we cannot state this here because we did not obtain a difference in haematocrit between AAs and ASs. We have reason to believe that such a thing occurs in view of the increased capacity for auto-oxidation of haem in the presence of haemoglobin S.

## Perspectives

We observed differentiated SkBF responses to exercise. In AA, this response can be interpreted as a "ceiling effect" expressed by a healthy endothelium, as previously suggested (Francisco et al. 2017). Conversely, the SkBF observed in AS suggests a larger vasodilatory reserve. Romero et al. investigated micro- and macrovascular function in elderly and younger subjects and found that a large reserve in vascular reactivity might not be the normal response (Romero et al. 2017), although this may be counterintuitive. We thus

suggest that the SkBF profile we identified is not normal. This profile may instead be optimized to adapt to the physiological constraints specific to SCT carriers. In line with this view, previous studies have demonstrated vascular remodeling in active AS characterized by a decrease in the tortuosity of the vessels, which gives way to a greater density of large capillaries to the detriment of small capillaries (Vincent et al. 2010).

## Conclusion

No evidence of severe vascular impairment, cardiac injury, rhabdomyolysis or occlusive events was observed in the sickle cell trait carriers of this study, despite conditions conducive to these types of complications. A specific profile was identified in this population, with enhanced microvascular reactivity after maximal exercise in stressful environment and slight pro-/antioxidant imbalance. Studies concerning the mechanisms underlying possible microvascular adaptations in trained AS are necessary. It would also be relevant to observe whether this increase dilatation persists in late recovery.

**Acknowledgements** We thank the participants, nurses (coordinated by Franceline Falla), and physicians (Patrick Chérubin, Nicolas Benoit) for their great involvement.

**Author contributions** KR: formal analysis, investigation, methodology, writing— original draft, writing review & editing. ETNS: data curation, formal analysis, investigation, review & editing. MR: investigation, resources, writing—review & editing. PC: conceptualization, formal analysis, resources, writing – review & editing. SR: investigation, methodology. SH: investigation, methodology. OH: original draft, review & editing. MHD: investigation, methodology, writing – review & editing. SAJ: conceptualization, data curation, formal analysis, funding acquisition, investigation, methodology, project administration, resources, supervision, writing – original draft, writing – review & editing.

**Funding** Funding for this work was provided by European Regional Development Fund & Région Guadeloupe 2015-FED-213.

## Declarations

**Conflict interest** The author declares no financial or other conflict of interest that might bias this article.

**Ethical approval** The participants were informed of the procedures and purposes of the study, which were in accordance with the institutional guidelines and the Helsinki Declaration of 2013 and was approved by the National Ethics Committee (CPP 17.10.10). This protocol described in this article is part of a larger project registered in EudraCT (TDEX: 2017-A02226-47) and Clinical Trials (NCT04028791).

## References

- Alayash AI (2018) Oxidative Pathways in the Sickle Cell and Beyond. *Blood Cells Mol Dis* 70:78–86. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2017.05.009>
- Bilé A, Le Gallais D, Mercier B, Martinez P, Ahmaidi S, Préfaut C (1996) Anaerobic exercise components during the force-velocity test in sickle cell trait. *Int J Sports Med* 17(4):254–258. <https://doi.org/10.1055/s-2007-972842>
- Buchanan BK, Siebert DM, Suchsland MLZ, Drezner JA, Asif IM, O'Connor FG, Harmon KG (2020) Sudden Death Associated with Sickle Cell Trait before and after Mandatory Screening. *Sports Health*. <https://doi.org/10.1177/1941738120915690>
- Charkoudian N, Stachenfeld NS (2014) Reproductive Hormone Influences on Thermoregulation in Women. In: *Comprehensive Physiology* (p. 793–804). American Cancer Society. <https://doi.org/10.1002/cphy.c130029>
- Chirico EN, Faës C, Connes P, Canet-Soulas E, Martin C, Pialoux V (2016) Role of exercise-induced oxidative stress in sickle cell trait and disease. *Sports Med* 46(5):629–639. <https://doi.org/10.1007/s40279-015-0447-z>
- Connes P, Sara F, Hardy-Dessources M-D, Marlin L, Etienne F, Larifla L, Saint-Martin C, Hue O (2006) Effects of short supramaximal exercise on hemorheology in sickle cell trait carriers. *Eur J Appl Physiol* 97(2):143–150. <https://doi.org/10.1007/s00421-006-0155-3>
- Das SK, Hinds JE, Hardy RE, Collins JC, Mukherjee S (1993) Effects of physical stress on peroxide scavengers in normal and sickle cell trait erythrocytes. *Free Radical Biol Med* 14(2):139–147. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(93\)90004-e](https://doi.org/10.1016/0891-5849(93)90004-e)
- Diaw M, Samb A, Diop S, Sall ND, Ba A, Cissé F, Connes P (2014) Effects of hydration and water deprivation on blood viscosity during a soccer game in sickle cell trait carriers. *Br J Sports Med* 48(4):326–331. <https://doi.org/10.1136/bjsports-2012-091038>
- Diaw M, Pialoux V, Martin C, Samb A, Diop S, Faes C, Mury P, Sall Diop N, Diop S-N, Ranque B, Mbaye MN, Key NS, Connes P (2015) Sickle cell trait worsens oxidative stress, abnormal blood rheology, and vascular dysfunction in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 38(11):2120–2127. <https://doi.org/10.2337/dc15-0699>
- Francisco MA, Brunt VE, Jensen KN, Lorenzo S, Minson CT (2017) Ten days of repeated local forearm heating does not affect cutaneous vascular function. *J Appl Physiol* 123(2):310–316. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00966.2016> ((Bethesda, Md.: 1985))
- Gozal D, Thiriet P, Mbala E, Wouassi D, Gelas H, Geysant A, Lacour JR (1992) Effect of different modalities of exercise and recovery on exercise performance in subjects with sickle cell trait. *Med Sci Sports Exerc* 24(12):1325–1331
- Harmon KG, Drezner JA, Klossner D, Asif IM (2012) Sickle cell trait associated with a RR of death of 37 times in national collegiate athletic association football athletes: a database with 2 million athlete-years as the denominator. *Br J Sports Med* 46(5):325–330. <https://doi.org/10.1136/bjsports-2011-090896>
- Hebbel RP, Morgan WT, Eaton JW, Hedlund BE (1988) Accelerated autoxidation and heme loss due to instability of sickle hemoglobin. *Proc Natl Acad Sci USA* 85(1): 237–241. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC279519/>
- Hedreville M, Connes P, Romana M, Magnaval G, David T, Hardy-Dessources M-D, Belloy M-S, Etienne-Julan M, Hue O (2009) Central retinal vein occlusion in a sickle cell trait carrier after a cycling race. *Med Sci Sports Exerc* 41(1):14–18. <https://doi.org/10.12s49/MSS.0b013e31818313d0>
- Hierso R, Waltz X, Mora P, Romana M, Lemonne N, Connes P, Hardy-Dessources M-D (2014) Effects of oxidative stress on red blood cell rheology in sickle cell patients. *Br J Haematol* 166(4):601–606. <https://doi.org/10.1111/bjh.12912>
- Ighodaro OM, Akinloye OA (2018) First line defence antioxidants—superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alex J Med* 54(4):287–293. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>
- Kark JA, Posey DM, Schumacher HR, Ruehle CJ (1987) Sickle-cell trait as a risk factor for sudden death in physical training. *N Engl J Med* 317(13):781–787. <https://doi.org/10.1056/NEJM198709243171301>
- Key NS, Connes P, Derebail VK (2015) Negative health implications of sickle cell trait in high income countries: from the football field to the laboratory. *Br J Haematol* 170(1):5–14. <https://doi.org/10.1111/bjh.13363>
- Marlin L, Connes P, Antoine-Jonville S, Tripette J, Montout-Hedreville M, Sanouiller A, Etienne-Julan M, Hue O (2008) Cardiorespiratory responses during three repeated incremental exercise tests in sickle cell trait carriers. *Eur J Appl Physiol* 102(2):181–187. <https://doi.org/10.1007/s00421-007-0570-0>
- Messonnier L, Samb A, Tripette J, Gogh BD, Loko G, Sall ND, Féasson L, Hue O, Lamothe S, Bogui P, Connes P (2012) Moderate endurance exercise is not a risk for rhabdomyolysis or renal failure in sickle cell trait carriers. *Clin Hemorheol Microcirc* 51(3):193–202. <https://doi.org/10.3233/CH-2011-1524>
- Nader E, Skinner S, Romana M, Fort R, Lemonne N, Guillot N, Gauthier A, Antoine-Jonville S, Renoux C, Hardy-Dessources M-D, Stauffer E, Joly P, Bertrand Y, Connes P (2019) Blood rheology: key parameters, impact on blood flow, role in sickle cell disease and effects of exercise. *Front Physiol*. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01329>

- Nelson DA, Deuster PA, O'Connor FG, Kurina LM (2018) Sick cell trait and heat injury among US Army soldiers. *Am J Epidemiol* 187(3):523–528. <https://doi.org/10.1093/aje/kwx285>
- O'Connor FG, Bergeron MF, Cantrell J, Connes P, Harmon KG, Ivy E, Kark J, Klossner D, Lisman P, Meyers BK, O'Brien K, Ohene-Frempong K, Thompson AA, Whitehead J, Deuster PA (2012) ACSM and CHAMP summit on sickle cell trait: mitigating risks for warfighters and athletes. *Med Sci Sports Exerc* 44(11):2045–2056. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e31826851c2>
- Pedersen ES, Tengesdal S, Radtke M, Langlo KAR (2019) Major increase in creatine kinase after intensive exercise. *Tidsskrift for Den Norske Laegeforening: Tidsskrift for Praktisk Medicin, Ny Raekke*. <https://doi.org/10.4045/tidsskr.18.0120>
- Quattrone RD, Eichner ER, Beutler A, Adams WB, O'Connor FG (2015) Exercise collapse associated with sickle cell trait (ECAST): case report and literature review. *Curr Sports Med Rep* 14(2):110–116. <https://doi.org/10.1249/JSR.0000000000000137>
- Reminy K, Hue O, Antoine-Jonville S (2020) Effect of warm environment on the skin blood flow response to food intake. *Int J Hyperth* 37(1):836–842. <https://doi.org/10.1080/02656736.2020.1788174>
- Romero SA, Gagnon D, Adams AN, Cramer MN, Kouda K, Crandall CG (2017) Acute limb heating improves macro- and microvascular dilator function in the leg of aged humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 312(1):H89–H97. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00519.2016>
- Roustit M, Blaise S, Millet C, Cracowski JL (2010) Reproducibility and methodological issues of skin post-occlusive and thermal hyperemia assessed by single-point laser Doppler flowmetry. *Microvasc Res* 79(2):102–108. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2010.01.001>
- Sara F, Hardy-Dessources M-D, Marlin L, Connes P, Hue O (2006) Lactate distribution in the blood compartments of sickle cell trait carriers during incremental exercise and recovery. *Int J Sports Med* 27(6):436–443. <https://doi.org/10.1055/s-2005-865844>
- Saxena P, Chavarria C, Thurlow J (2016) Rhabdomyolysis in a Sickle Cell Trait Positive Active Duty Male Soldier. *U.S. Army Med Dep J* 20–23.
- Singer DE, Byrne C, Chen L, Shao S, Goldsmith J, Niebuhr DW (2018) Risk of Exertional Heat Illnesses Associated with Sickle Cell Trait in U.S. Military. *Military Medicine*, 183(7-8), e310–e317. <https://doi.org/10.1093/milmed/usx085>
- Skinner S, Connes P, Sigaudou-Roussel D, Lo M, Liu KL, Nader E, Josset-Lamaugarny A, Charrin E, Martin C, Romanet-Faes C, Diaw M, Pialoux V, Fromy B (2019) Altered blood rheology and impaired pressure-induced cutaneous vasodilation in a mouse model of combined type 2 diabetes and sickle cell trait. *Microvasc Res* 122:111–116. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2018.11.014>
- Skinner S, Liu KL, Lo M, Josset-Lamaugarny A, Charrin E, Martin C, Pialoux V, Fromy B, Connes P, Sigaudou-Roussel D (2020) Alterations in vascular reactivity in a transgenic mouse model of sickle cell trait. *Br J Haematol* 189(4):e154–e157. <https://doi.org/10.1111/bjh.16577>
- Tripette J, Alexy T, Hardy-Dessources M-D, Mouguel D, Beltan E, Chalabi T, Chout R, Etienne-Julan M, Hue O, Meiselman HJ, Connes P (2009) Red blood cell aggregation, aggregate strength and oxygen transport potential of blood are abnormal in both homozygous sickle cell anemia and sickle-hemoglobin C disease. *Haematologica* 94(8):1060–1065. <https://doi.org/10.3324/haematol.2008.005371>
- Tripette J, Connes P, Beltan E, Chalabi T, Marlin L, Chout R, Baskurt OK, Hue O, Hardy-Dessources M-D (2010a) Red blood cell deformability and aggregation, cell adhesion molecules, oxidative stress and nitric oxide markers after a short term, submaximal, exercise in sickle cell trait carriers. *Clin Hemorheol Microcirc* 45(1):39–52. <https://doi.org/10.3233/CH-2010-1325>
- Tripette J, Loko G, Samb A, Gogh BD, Sewade E, Seck D, Hue O, Romana M, Diop S, Diaw M, Brudey K, Bogui P, Cissé F, Hardy-Dessources M-D, Connes P (2010b) Effects of hydration and dehydration on blood rheology in sickle cell trait carriers during exercise. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol* 299(3):H908–H914. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00298.2010>
- Vincent L, Féasson L, Oyono-Enguélé S, Banimbek V, Denis C, Guarneri C, Aufradet E, Monchanin G, Martin C, Gozal D, Dohbobga M, Wouassi D, Garet M, Thiriet P, Messonnier L (2010) Remodeling of skeletal muscle microvasculature in sickle cell trait and alpha-thalassemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 298(2):375–384. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00812.2009>
- Walløe L (2015) Arterio-venous anastomoses in the human skin and their role in temperature control. *Temp Multidiscip Biomed J* 3(1):92–103. <https://doi.org/10.1080/23328940.2015.1088502>
- Wang Y, Branicky R, Noë A, Hekimi S (2018) Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *J Cell Biol* 217(6):1915–1928. <https://doi.org/10.1083/jcb.201708007>
- Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillère-Blandin C et al (1996) Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int* 49:1304–13. <https://doi.org/10.1038/ki.1996.186>
- Zimmerman JL, Shen MC (2013) Rhabdomyolysis. *Chest* 144(3):1058–1065. <https://doi.org/10.1378/chest.12-2016>

**Publisher's Note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

## Résumé

---

La forme hétérozygote (AS) de la drépanocytose est généralement asymptomatique sur le plan clinique, contrairement à la forme homozygote (SS). Néanmoins, dans des conditions d'exercice intense les porteurs du trait drépanocytaire présentent des complications microvasculaires graves parfois fatales. Il a été noté que l'environnement chaud ou tropical serait un élément déterminant dans la survenue de ces complications. Ces travaux de thèse visaient à caractériser les spécificités de la fonction microvasculaire chez les porteurs du trait drépanocytaire (PTDs) dans des conditions d'exercice en environnement chaud. De plus, pour mieux comprendre les variations de la fonction microvasculaire observées en post-prandial nous avons mené une étude ancillaire chez les personnes sans hémoglobinopathie. Nous avons montré que l'hyperglycémie post-prandiale diminue la perfusion tissulaire et la vasoréactivité chez les jeunes hommes actifs en environnement chaud, contrairement aux jeunes femmes qui conservent une perfusion tissulaire inchangée dans ces conditions. Notre étude conduite à partir d'une population de jeunes actifs masculins PTDs a démontré qu'ils présentaient (1) une perfusion tissulaire et une réserve vasomotrice préservée au repos et (2) une dilatation microvasculaire accrue dans des conditions d'exercice en environnement chaud chez les PTDs par rapport à leurs homologues non porteurs. L'analyse de certains déterminants de la fonction microvasculaire a montré un stress oxydatif accru chez les PTDs et de légères perturbations hémorhéologiques à l'issue de l'exercice par rapport aux personnes à hémoglobine normale. Ainsi, il semblerait que les PTDs actifs présentent des adaptations microvasculaires capables de compenser une rhéologie sanguine altérée, pour maintenir une oxygénation tissulaire normale à l'exercice.

**Mots clés :** *Porteurs du trait drépanocytaire, fonction microvasculaire, exercice, environnement chaud, thermorégulation, prise alimentaire.*

## **Abstract**

---

The heterozygous form (AS) of sickle cell disease is usually clinically asymptomatic, unlike the homozygous form (SS). Nevertheless, under conditions of intense exercise, carriers of the sickle cell trait present serious and sometimes fatal microvascular complications. It was noted that the warm or tropical environment would be a determining element in the occurrence of these complications. The aim of this thesis was to characterize the specificities of microvascular function in sickle cell trait carriers (SCTs) in warm environment exercise conditions. In addition, to better understand the variations in microvascular function observed postprandially we conducted an ancillary study in individuals without hemoglobinopathy. We also showed that postprandial hyperglycemia decreases tissue perfusion and vasoreactivity in young active men in a warm environment, in contrast to young women who maintain unchanged tissue perfusion under these conditions. Our study conducted in a population of young active male SCTs demonstrated that they had (1) preserved tissue perfusion and vasomotor reserve at rest and (2) increased microvascular dilation under warm exercise conditions in SCTs compared with their non-carriers counterparts. Analysis of some determinants of microvascular function showed increased oxidative stress in SCTs and slight hemorheological disturbances after exercise compared with normal hemoglobin individuals. Thus, it would appear that active SCTs exhibit microvascular adaptations capable of compensating for altered blood rheology to maintain normal tissue oxygenation during exercise.

***Key words: Sickle cell trait carriers, microvascular function, exercise, warm environment, thermoregulation.***