

CAHIER DE

Formation

Biologie médicale

N°33

2005

Sport et biologie



BIOFORMA

FORMATION CONTINUE DES BIOLOGISTES



Chère Consœur, Cher Confrère,

L'activité sportive des êtres humains, autrefois pratiquée par peu d'individus à la recherche de diverses performances, tend à se généraliser, tant chez l'homme que chez la femme, pour des raisons diverses. Cette pratique est encouragée par des incitations médico-sociologiques s'adressant à la prévention de possibles pathologies tout autant qu'à la rééducation post traumatisme.

L'élévation de la connaissance pharmacologique permet une offre marchande de substances supposées offrir en accompagnement du sport ou pour en amplifier les résultats des compléments exogènes dont l'usage est loin d'être innocent pouvant même se révéler carrément nocif à court ou moyen terme.

Par effet d'image l'utilisation de ces substances intervient également dans les processus de recherche de performances professionnelles et/ou sociales et relationnelles.

En dehors des instances réglementaires, le clinicien se doit, quelle que soit l'étape du processus où il est consulté, faire appel à la biologie pour identifier et mesurer les substances en présence et leurs effets.

Ce cahier de formation vous présente l'état de l'art et des connaissances actuelles conduisant ainsi aux moyens d'un dialogue fécond entre les cliniciens et le laboratoire.

L'équipe rédactionnelle de compétence reconnue et appréciée a voulu présenter un document aussi complet que possible, qui vous permettra d'entrer de plain pied dans ce domaine difficile d'accès pour les non-initiés.

Nous vous souhaitons bonne réception de ce 33^{ème} cahier de formation et vous prions d'accepter, Cher Confrère, nos cordiales et confraternelles salutations.

230, boulevard Raspail
75014 Paris

Tél. 01.56.54.39.39
Fax : 01.56.54.39.30

site internet : www.bioforma.net
E-mail : bioforma@wanadoo.fr

Association régie par la loi de 1901
siret : 391 155 744 00025
code APE : 8040

Adrien BEDOSSA
Président

Sport et biologie

Ouvrage réalisé sous la direction du
Professeur Stéphane BERMON, Monaco

Liste des auteurs

■ Pr. Stéphane BERMON

Biologiste et Médecin du Sport, Qualifié Professeur d'Université en Sciences du Sport (EA 3162, 83957, La Garde)

Inspection Médicale des Sportifs, 7 avenue des Castelans, 98000 MONACO

Tel. : 377 92 05 41 11

Fax. : 377 92 05 43 11

bermon@unice.fr

■ Dr. Martine DUCLOS

Laboratoire Neurogénétique et Stress, INSERM U471, Institut François Magendie, rue Camille Saint Saëns, Université Bordeaux II, 33077 BORDEAUX Cedex, France

Service Sport Santé, Hôpital Pellegrin, Tripode, 33076 BORDEAUX, France

Tel : 05-57-57-37-54

Fax : 05-57-57-37-52

duclos@pop.bordeaux.inserm.fr

■ Dr. Michel GUINOT

Rhumatologue, Médecin Fédéral Adjoint, Fédération Française de Cyclisme, 5 rue de Rome, 93561 ROSNY SOUS BOIS

Tel. : 01 49 35 69 18

Fax. : 01 49 35 63 20

mguinot@wanadoo.fr

■ Dr. Yves JACOMET

Toxicologue, Laboratoire de Toxicologie, Antenne Médicale de Prévention et de Lutte contre le Dopage, Hôpital Pasteur, CHU de Nice, BP 69, 06002 NICE Cedex 1

Tel. : 04 92 03 85 00

Fax. : 04 92 03 82 18

jacomet@club-internet.fr

■ Mr Stéphane PALAZZETTI

Docteur en Sciences du Sport

17 rue Frédéric Passy, 06000, NICE

Tel. : 04 93 44 54 61

spalazzetti@free.fr

SOMMAIRE

CHAPITRE I

Sports et facteurs de risque des maladies cardio-vasculaires : approche biologique (S. Bermon)	11
<u>Introduction</u>	12
<u>La sédentarité</u> : un facteur de risque en tant que tel	13
<u>Activités physiques et sportives et bilan lipidique</u>	15
<u>Activités physiques et sportives et troubles du métabolisme du glucose</u>	17
<u>Activités physiques et sportives et hypertension artérielle</u>	18
<u>Activités physiques et sportives et rééducation pondérale</u>	19
<u>Activités physiques et sportives et coagulation - fibrinolyse</u>	20
<u>Conclusions</u>	21
<u>Bibliographie</u>	22

SOMMAIRE

CHAPITRE II

La fonction hormonale du sportif (M. Duclos)25

Introduction26

Exercice musculaire et axe somatotrope27

Physiologie du contrôle de la sécrétion de GH au cours de l'exercice27

Production de GH pendant l'exercice musculaire28

Dynamique de la production de GH au décours de l'exercice31

Effet de l'exercice sur la concentration plasmatique d'IGF-I31

 Effet d'une session d'exercice31

 Effet de l'entraînement32

Conclusion32

Exercice musculaire et axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire33

Production de testostérone pendant l'exercice musculaire34

Conclusion38

Axe gonadotrope : particularités de la femme39

Physiopathologie40

L'Aménorrhée de la sportive41

Exercice musculaire et activation fonctionnelle de l'axe corticotrope45

Physiologie de l'activation corticotrope pendant l'exercice musculaire45

Mise en jeu de l'activation corticotrope au cours de l'exercice musculaire45

Dynamique de la production de cortisol en rapport avec l'exercice musculaire46

Adaptation de l'axe corticotrope à l'entraînement en endurance46

Conclusion52

Conclusion générale52

Bibliographie53

CHAPITRE III

Le suivi biologique des sportifs de haut niveau : exemple de la Fédération Française de Cyclisme (M. Guinot)	57
<u>Introduction</u>	58
<u>Problématique du sport de haut niveau</u>	59
Aspects généraux du sport de haut niveau	59
Les contraintes du sport de haut niveau	60
La santé et le sport de haut niveau	61
Les effets délétères de la pratique intensive du sport de haut niveau	61
Sports de haut niveau et pratiques à risques.....	62
<u>Les risques spécifiques du sport de haut niveau</u>	63
Troubles du comportement alimentaire et pratique sportive intensive	63
Le dopage	65
Définition, réglementation et aspects médico-légaux.....	65
Epidémiologie et mode de pratiques	65
Détection du dopage : mise en évidence directe des substances.....	69
Détection du dopage : mise en évidence indirecte des substances	69
Dépistage de l'abus d'érythropoïétine recombinante (Rh EPO).....	69
Dépistage de l'abus d'hormone de croissance	71
<u>Le suivi médical des sportifs de haut niveau : l'exemple de la Fédération Française de Cyclisme</u>	72
Mise en place de la logistique.....	72
Conditions pré-analytiques.....	73
Choix du contenu du bilan biologique.....	74

SOMMAIRE

Caractéristiques de la population étudiée	75
Résultats	77
Variation saisonnière des paramètres.....	77
Mesure de la variation saisonnière	79
Analyse par paramètres.....	80
<u>Bibliographie</u>	82

CHAPITRE IV

Sport - Stress oxydant - Nutrition : ce que doit savoir le biologiste (S. Palazetti).....

87

Introduction

88

Production d'ardo en situation d'exercice

90

Mécanismes primaires.....

90

Mécanismes secondaires.....

90

Mesure de l'activité des radicaux libres

92

Diversité des marqueurs de l'activité des radicaux libres.....

93

Marqueurs de la peroxydation lipidique

93

Exercice aigu et peroxydation lipidique.....

96

Entraînement et peroxydation lipidique.....

96

Marqueurs de l'oxydation des protéines.....

97

Marqueurs de l'oxydation de l'ADN.....

97

Système de défense contre les radicaux libres.....

99

Systèmes de défenses endogènes enzymatiques.....

99

Systèmes de défense endogènes non enzymatiques.....

102

Systèmes de défense exogènes	104
Le système antioxydant total	104
Vitamines antioxydantes.....	105
Les Phytonutriments	108
Oligoéléments antioxydants.....	108
Supplémentation en complexe micronutritionnel chez le sportif.....	110
<u>Conclusions</u>	112
<u>Bibliographie</u>	115

CHAPITRE V

Sport et immunité (S. Bermon)	129
<u>Introduction</u>	130
<u>Les effets d'un exercice isolé sur la fonction immunitaire</u>	131
<u>Les effets de l'entraînement physique sur la fonction immunitaire</u>	134
<u>Etats de surentraînement et fonction immunitaire</u>	135
<u>Cas de l'immunité muqueuse et de la mesure des IgA</u>	136
<u>Place de l'interleukine-6 en immunologie de l'exercice</u>	137
Généralités.....	137
Les effets immunitaires de l'IL-6 d'origine musculaire	137
IL-6 comme agent de signalisation métabolique	138
<u>Pratique sportive pendant les états infectieux</u>	140

<u>Manipulations nutritionnelles et immunité du sportif</u>	141
<u>Conclusions</u>	142
<u>Bibliographie</u>	143

CHAPITRE VI

Les limites analytiques de la recherche d'une consommation de produits dopants (Y. Jacomet)	147
--	-----

<u>Introduction</u>	148
----------------------------------	-----

<u>L'interprétation bayésienne</u>	149
---	-----

La définition	149
----------------------------	-----

Les calculs	151
--------------------------	-----

La spectrométrie de masse en tandem (ou SM-SM)	152
---	-----

Les leçons qu'il faut en tirer	153
---	-----

<u>L'obstacle de la pharmacocinétique</u>	155
--	-----

<u>L'utilité des métabolites</u>	156
---	-----

<u>Les substances endogènes</u>	156
--	-----

<u>Le cheveu</u>	157
-------------------------------	-----

<u>Conclusion</u>	158
--------------------------------	-----

<u>Bibliographie</u>	159
-----------------------------------	-----

**Sports et facteurs
de risque des maladies
cardiovasculaires :
approche biologique
(S. Bermon)**

Introduction

Au cours des cinquante dernières années, de multiples études épidémiologiques prospectives s'intéressant aux activités physiques et sportives (APS) ont régulièrement montré une incidence accrue des maladies coronariennes chez les personnes les moins physiquement actives. Ainsi, dans une de leurs premières études, Paffenbarger *et al.* (1) concluaient en ces termes : *“la combinaison d'un faible niveau de dépense énergétique, d'un tabagisme important, et d'une hypertension artérielle accroît le risque de mortalité coronarienne d'un facteur 20. Par élimination de ces facteurs de risque, une réduction d'environ 88 % de cette mortalité pourrait être envisagée pendant les 22 ans de la durée de l'étude”*. Treize années plus tard, Berlin et Colditz (2) publiaient les résultats d'une méta-analyse permettant de juger, de la contribution isolée du niveau d'activité physique dans les morts d'origine coronarienne. Cette étude princeps concluait à un risque relatif de mort d'origine coronarienne égale à 1,9 (intervalle de confiance 95 % : 1,6 – 2,2) chez les sujets les plus sédentaires lorsque ces derniers étaient comparés aux sujets les plus physiquement actifs.

En effet, les APS permettent dans une certaine mesure, une tendance à la normalisation des situations de dyslipidémie, d'insulino-résistance ou de trouble de la tolérance au glucose, d'hypertension artérielle et de surpoids. Les APS exercent également un effet favorable sur le stress, le maintien du sevrage tabagique, et les phénomènes de coagulation - fibrinolyse.

La sédentarité : un facteur de risque en tant que tel

Si les travaux traitant des effets chroniques des APS sur les causes et conséquences de l'athérome sont nombreux, les effets propres de la sédentarité sur ces mêmes variables ont beaucoup moins été abordés dans la littérature scientifique. Ceci peut s'expliquer par la difficulté évidente de caractériser la sédentarité sans avoir recours à des marqueurs d'APS. Le présent chapitre ne fait malheureusement pas exception. Doit-on toutefois considérer la sédentarité comme une simple absence d'APS, ou plutôt comme le résultat d'un ensemble de comportements dont certains n'ont clairement jamais figurés dans des études liées à l'athérome ?

Ainsi, et à titre d'illustration, nous rapportons ici que le temps consacré à regarder la télévision est un indice de la sédentarité dont la quantification et l'étude peuvent s'avérer très intéressantes dans la compréhension de la maladie athéromateuse.

Pour ce faire, Kronenberg et al (3) ont étudié les influences respectives du niveau d'APS et du temps passé devant la télévision sur les facteurs de risque athéromateux.

Ces auteurs ont tout d'abord montré que parmi les 1778 sujets sains étudiés, seulement 0,7 et 1,3% de la variance du temps consacré aux APS, respectivement chez les femmes et les hommes, pouvaient être expliqués par le temps passé devant la télévision. Ce résultat original, obtenu après ajustement pour le type de travail, l'âge, la consommation alcoolique et tabagique, le niveau d'éducation, le niveau de revenu et le statut hormonal, démontre que le temps passé devant la télévision peut être utilisé comme un marqueur de sédentarité quasiment indépendant des marqueurs d'APS.

De façon assez logique, ce travail conclue également que le niveau d'APS et le temps passé devant la télévision sont respectivement, négativement et positivement corrélés avec l'indice de masse corporelle, le ratio tour de taille - tour de hanche et l'épaisseur des plis cutanés.

De plus, les femmes présentant un indice de masse corporelle égale à 30 kg/m², passant une heure par jour devant la télévision et effectuant 75 minutes hebdomadaires d'APS modérées, présentaient un indice de masse corporelle inférieur de 1,8 kg/m² à des femmes effectuant la même quantité d'exercice, mais consacrant trois heures par jour devant la télévision.

Enfin, chez les sujets de sexe masculin, ce même temps passé devant la télévision, était positivement associé avec les concentrations plasmatiques de triglycérides et négativement corrélé aux concentrations de HDL cholestérol.

Il semble donc, aux vues de ce travail original, que le faible temps consacré aux APS d'une part et le temps important consacré aux activités télévisuelles d'autre part, exercent des effets cumulatifs indépendants sur les facteurs de risque de la maladie athéromateuse.

De plus, certains travaux sérieux se sont intéressés aux messages commerciaux, diffusés pendant et entre les programmes télévisuels ainsi qu'à leur retentissement sur le comportement alimentaire des populations (4,5). Il semble clairement que ces messages incitent au "snacking", aggravant ainsi les problèmes de surpoids et d'obésité et, par là même, la survenue de la pathologie athéromateuse.

Aux vues de ces données, il peut être évoqué le scénario suivant, où la sédentarité aide à la survenue d'un surpoids qui, par son retentissement orthopédique, va entraîner une réduction spontanée du niveau d'APS du sujet ; le confinant plus fréquemment devant la télévision et l'incitant à des consommations alimentaires anarchiques, faisant elles-mêmes le lit de l'obésité (Figure 1).

Au plan pratique, ces résultats indiquent qu'il convient, afin de lutter de façon efficace contre l'athérogénèse, outre de privilégier les APS, d'également inciter les sujets à risque à moins regarder la télévision ! En effet, moins regarder la télévision incite probablement à un mode de vie plus actif, sans pour autant que ces activités relèvent des APS à proprement parler.

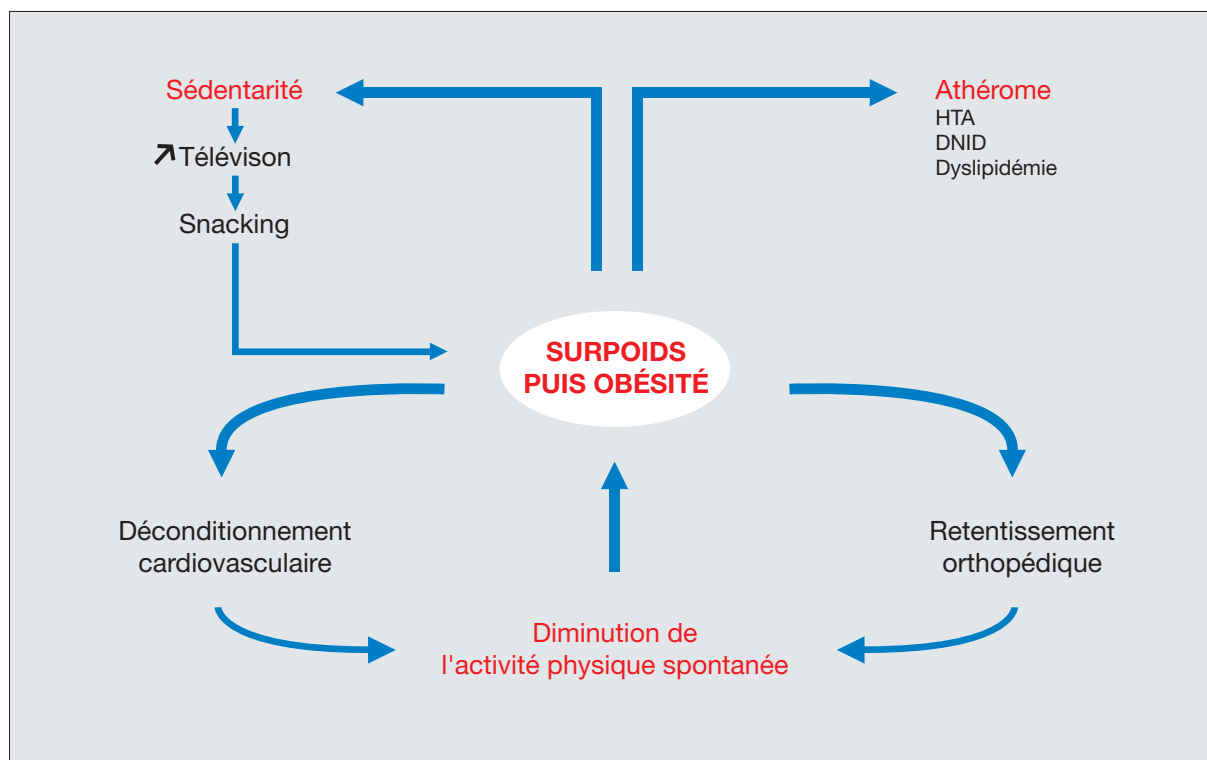


Figure 1 : Exemple de modélisation du risque d'athérome au travers d'un indice de la sédentarité (temps consacré aux activités télévisuelles).

Activités physiques et sportives et bilan lipidique

L'exercice physique, pratiqué régulièrement, exerce des effets favorables, d'intensité variable, sur les concentrations plasmatiques de triglycérides, de HDL cholestérol et de LDL cholestérol.

Cependant, l'amplitude de ces effets induit par l'exercice est à la fois influencée par les caractéristiques du programme d'intervention physique, l'existence ou non d'une réduction concomitante du poids, ainsi que par une variabilité interindividuelle non négligeable. D'une façon générale, les effets des APS sur les dyslipidémies sont moindres que ceux obtenus grâce à des interventions pharmacologiques. Toutefois, ces effets peuvent être amplifiés par des modifications du régime alimentaire et/ou une réduction pondérale.

Les études d'intervention traitant des effets de l'exercice régulier sur les paramètres du bilan lipidique sont très nombreuses. Ainsi, une méta-analyse de 52 études d'intervention d'une durée supérieure à 12 semaines, incluant 4700 sujets, a permis de conclure à une augmentation moyenne du HDL cholestérol de 4,6 %, une réduction des triglycérides de 3,7 %, et une réduction du LDL cholestérol de 5 % (6,7).

Certaines études font toutefois état d'effets moins nets de l'activité physique et sportive régulière sur le LDL cholestérol (8).

Encore plus intéressants sont les résultats de la National Runner's Health Study (9,10). En effet, cette étude transversale intéressant 8283 hommes et 1837 femmes a permis d'établir de façon précise l'importance de la relation dose-réponse pour ce qui concerne les effets de l'APS (en l'occurrence la course à pied) sur certains paramètres du bilan lipidique. Il apparaît ainsi, chez les hommes, une augmentation de 0,135 mg/dL du HDL cholestérol par kilomètre hebdomadaire parcouru. De plus, la réduction des triglycérides plasmatiques est calculée à 0,48 mg/dL par kilomètre hebdomadaire parcouru. Chez les sujets de sexe féminin, des résultats comparables sont retrouvés avec une augmentation de 0,115 mg/dL/km et une réduction de 0,48 mg/dL/km. Pour ce qui concerne le HDL cholestérol, la relation dose-réponse semble linéaire chez l'homme comme chez la femme, et ce au moins jusqu'à des kilométrages hebdomadaires de 100 km.

Il convient, enfin de retenir que la plupart des études s'intéressant aux effets des APS sur le HDL cholestérol montre que le volume d'entraînement (nombre d'heures d'entraînement ou

kilomètres parcourus) est nettement plus conditionnant que l'intensité à laquelle l'activité physique est pratiquée. Selon les études considérées, un kilométrage hebdomadaire compris entre 24 et 48 km, soit un surcoût calorique hebdomadaire de 1500 à 3000 kcalories) permet une augmentation statistiquement significative du HDL cholestérol. Ces effets bénéfiques sont obtenus de façon quasi-identique pour des APS aussi diverses que la natation, le cyclisme ou la course à pied ; la seule condition étant la mise en jeu d'une masse musculaire suffisamment importante pour solliciter de façon notable le métabolisme aérobie (en pratique plus de 15% de la masse musculaire squelettique totale). En revanche, un indice de masse corporelle supérieur à 27, ainsi qu'une surcharge pondérale de type androïde, semblent atténuer les effets favorables de l'activité physique régulière sur le HDL cholestérol et les triglycérides plasmatiques. Cependant, chez ces sujets, une diminution du poids et de l'adiposité ne sont pas indispensables pour observer quelques améliorations des valeurs de HDL cholestérol et de triglycérides secondairement à la mise en place d'un exercice régulier. Ceci est particulièrement vrai chez le sujet de sexe féminin.

Les mécanismes contribuant à ces modifications des lipides circulants secondairement à l'activité physique sont multiples, complexes et en cours de démantèlement. Il semble, toutefois, que l'exercice physique par le biais, entre autres, du système PPARs active des gènes essentiels à la synthèse d'enzymes et de protéines de transport du métabolisme des lipides. (11,12).

Activités physiques et sportives et troubles du métabolisme du glucose

D'assez nombreux travaux font état d'effets bénéfiques des APS sur les tableaux d'insulino-résistance, de troubles de la tolérance au glucose ou d'hyperglycémie post-prandiale.

Une compilation de 9 études cliniques d'intervention incluant au total 337 sujets diabétiques de type 2, rapporte une réduction moyenne de l'HbA1c de 0,5 à 1 % (13). Ces résultats sont probablement légèrement sous estimés, compte tenu de la réduction concomitante de certaines médications anti-diabétique après rupture de la sédentarité.

Récemment, un travail du Diabetes Prevention Programme Research Group (14) a comparé, chez 3234 sujets, la survenue d'un diabète de type 2 au cours d'un suivi moyen de 2,8 années. Ces sujets des deux sexes étaient répartis en 3 groupes recevant, soit un placebo, soit 850 mg de metformine deux fois par jour, soit des conseils hygiéno-diététiques associés à 150 minutes par semaine de marche occasionnant une dépense calorique d'environ 600 kcalories. A l'issue de la période de suivi, les sujets physiquement actifs avaient réduit leur poids d'environ 4 kg et présentaient une diminution de survenue du diabète de type 2 de 58 % lorsque comparés aux sujets du groupe placebo et de 31 % lorsque comparés aux sujets traités par anti-diabétiques oraux.

Les mécanismes par lesquels s'exercent les effets bénéfiques de l'activité physique sur le métabolisme glucidique sont multiples. Ainsi, le muscle strié squelettique, principal siège de l'insulino-résistance, est fortement mis à contribution lors de l'activité physique, permettant ainsi une assimilation facilitée du glucose et une réduction de la glycémie. Ce phénomène s'opère par un mécanisme indépendant de l'insuline, impliquant les transporteurs de type GLUT 4. La glycogénosynthèse est également favorisée par l'exercice, réduisant ainsi la glycémie. Enfin, l'entraînement régulier privilégie l'utilisation des lipides comme substrat énergétique. Hors, il est désormais démontré qu'une accumulation musculaire de lipides favorise l'insulino-résistance.

Activités physiques et sportives et hypertension artérielle

Il est établi que la pratique régulière d'une APS réduit de façon significative les valeurs de pressions artérielles systolique et diastolique à la fois chez le normotendu et l'hypertendu. Cet effet est d'autant plus net que les valeurs initiales de pressions artérielles de repos sont élevées. Ainsi, les bénéfices les plus francs sont observés chez les patients souffrant d'une hypertension artérielle modérée pour laquelle la simple mise en œuvre d'un programme d'activité physique peut permettre une normalisation des valeurs de pression artérielle sans recours à d'autres médicaments.

Récemment, Fagard (15) a compilé dans une méta-analyse les résultats de 44 études randomisées sur le sujet, incluant 2674 patients au total.

Il s'avère qu'un programme de lutte contre la sédentarité permet de diminuer les valeurs de pressions artérielles systolique et diastolique de, respectivement 2,6 et 1,8 mm Hg chez le normotendu et de 7,4 et 5,8 mm Hg chez l'hypertendu. De façon assez surprenante, la diversité des programmes proposés par cette méta-analyse, notamment quant à leur durée ou leur intensité, permet de conclure que la courbe dose-réponse est, dans ce cas particulier, quasiment plate. Ceci indique que les bénéfices des APS sur les chiffres de pression artérielle sont uniformes pour une même classe de sujets au-delà d'un surcoût calorique hebdomadaire de 1000 à 1500 kcalories.

Activités physiques et sportives et réduction pondérale

Bien entendu, les APS pratiquées de façon régulière sont une aide importante dans la réduction du surpoids ou de l'obésité et de leur co-morbidité associée (16). Le maintien de cette perte pondérale secondaire à l'exercice est un point essentiel dans la réduction du risque athéromateux.

Ainsi, Wing et Hill (17) ont effectué une étude rétrospective sur 3000 personnes ayant perdu environ 30 kg et maintenu cette perte de poids pendant une durée moyenne de 5,5 ans. Parmi cette population étudiée, 81 % des sujets avait rapporté pratiquer une activité physique régulière importante, représentant chez les femmes un surcoût calorique hebdomadaire de 2445 kcalories et de 3298 kcalories chez les hommes. Ces dépenses caloriques étaient occasionnées par des activités aussi diverses que la marche, la course, "l'aérobic", le "stair climbing", le cyclisme ou la musculation.

Toutefois, deux aspects viennent modérer ces effets positifs des APS. Premièrement, certains spécialistes de l'appareil locomoteur pensent que des activités, telles la marche, la course, "l'aérobic", ou le "stair climbing", lorsque pratiquées avec un surpoids conséquent, ont des effets délétères sur les articulations des membres inférieurs et sont potentiellement génératrices d'arthrose. Deuxièmement l'obtention d'une perte de poids par les APS seules, si elle est théoriquement possible, est en pratique difficilement réalisable car un phénomène de compensation alimentaire secondaire à la séance de sport peut toujours survenir. De plus, il est plus aisé de retirer 800 kcalories de la diète quotidienne d'un sujet en surpoids que de faire dépenser à ce sujet 800 kcalories dans une journée par le simple biais des APS. A titre d'exemple, cette dépense nécessiterait pour ce sujet, qu'il pratique 60 minutes de course à pied à allure soutenue ou 100 minutes de course à pied à allure modérée, ce qui est souvent irréaliste.

Activités physiques et sportives et coagulation - fibrinolyse

Les effets des APS sur les phénomènes de coagulation et fibrinolyse ont été moins étudiés que ceux concernant tous les autres facteurs de risque des maladies cardio-vasculaires et de l'athérome. Pourtant, une fibrinolyse altérée est désormais reconnue comme un facteur de risque de survenue des maladies cardio-vasculaires indépendant des autres facteurs de risque. Pour ce qui concerne l'exercice aigu, ce dernier provoque, chez le sujet sain, une hémocoagulation ayant pour conséquence une concentration du nombre de plaquettes par unité de volume. De plus l'agrégabilité et l'activation plaquettaire augmentent après l'effort. L'étude de l'influence d'un exercice isolé sur les concentrations de fibrinogène aboutit à des résultats encore discordants. En revanche, il est clairement établi (18) qu'un exercice isolé réduit l'activité du PAI-1 (Plasminogen Activator Inhibitor) et accroît celle du tPA (tissue Plasminogen Activator). Ces deux phénomènes, en faveur de la fibrinolyse, voient leurs amplitudes augmentées avec la durée et surtout l'intensité de l'exercice accompli.

Chez le sujet sain, les effets de l'entraînement physique sur la coagulation sont assez mal connus, bien que l'on suppose une diminution de l'agrégabilité plaquettaire. La fibrinolyse semble favorisée par l'entraînement en augmentant l'activité tPA et réduisant l'activité du PAI-1 (18).

Pour les sujets à risque cardio-vasculaire, Lindahl et al (19) ont, au cours d'une étude d'intervention intéressant 186 sujets obèses ou présentant un trouble de la tolérance au glucose, mis en évidence que 140 heures annuelles d'APS, telles "l'aérobic", la marche, le cyclisme ou la natation, permettaient une réduction des concentrations plasmatiques de fibrinogène, d'antigène tPA, ainsi que de l'activité plasmatique du PAI-1. Cette réduction d'activité du PAI-1 était, elle-même, positivement et significativement corrélée à la réduction de l'indice de masse corporelle secondaire au programme d'intervention physique.

Conclusions

Les activités physiques et sportives sont dignes d'intérêt car elles représentent la seule condition influençant favorablement la quasi-totalité des facteurs de risque identifiés des maladies cardio-vasculaires. Mais, peut-on pour autant, dans la lutte quotidienne contre l'athérome, n'utiliser que des marqueurs d'activité physique pour définir la notion de sédentarité ? Probablement pas, et des travaux épidémiologiques restent à accomplir avant de répondre à cette interrogation.

Bibliographie

- 1 - Paffenbarger RS Jr, Hale WE, Brand RJ, *et al.* Work-energy level, personal characteristics, and fatal heart attack: a birth-cohort effect. *Am J Epidemiol* 1977 ; 105 : 200-13.
- 2 - Berlin JA, Colditz GA. A meta-analysis of physical activity in the prevention of coronary heart disease. *Am J Epidemiol* 1990 ; 132 : 612-28.
- 3 - Kronenberg F, Pereira MA, Schmitz KH Influence of leisure time physical activity and television watching on atherosclerosis risk factors in the NHLBI Family Heart Study. *Atherosclerosis* 2000 ; 153 : 433-443.
- 4 - Jeffery RW, French SA. Epidemic obesity in the United States: are fast foods and television viewing contributing? *Am J Public Health* 1998 ; 88 : 277-80.
- 5 - Lank NH, Vickery CE, Cotugna N *et al.* Food commercials during television soap operas: what is the nutrition message? *J Comm Health* 1992 ; 17 : 377-84.
- 6 - Leon AS, Sanchez OA. Response of blood lipids to exercise training alone or combined with dietary intervention. *Med Sci Sports Exerc* 2001 ; 33(6 Suppl) : S502-15.
- 7 - Leon AS, Sanchez OA. Meta-analysis of the effects of aerobic exercise training on blood lipids. *Circulation* 2001 ; 104 (suppl) : II-414-II-415.
- 8 - Kraus WE, Houmard JA, Duscha BD *et al.* Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins. *N Engl J Med* 2002 ; 347 : 1483-92.
- 9 - Williams PT High-density lipoprotein cholesterol and other risk factors for coronary heart disease in female runners *N Engl J Med* 1996 ; 334 : 1298-303.
- 10 - Williams PT Relationship of distance run per week to coronary heart disease risk factors in 8283 male runners. The National Runners' Health Study. *Arch Intern Med* 1997 ; 157 : 191-8.
- 11 - Tunstall, RJ, Mehan KA, Wadley GD *et al.* Exercise training increases lipid metabolism gene expression in human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002 ; 283 : E66-E72.
- 12 - Horowitz JF, Leone TC, Feng W *et al.* Effect of endurance training on lipid metabolism in women: a potential role for PPAR α in the metabolic response to training. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000 ; 279 : E348-E355.
- 13 - Thompson PD, Crouse SF, Goodpaster B *et al.* The acute versus the chronic response to exercise *Med Sci Sports Exerc* 2001 ; 33(6 Suppl) : S438-45.
- 14 - Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE *et al.* Reduction in the incidence of type 2

- diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med* 2002 ; 346 : 393-403.
- 15 - Fagard RH Exercise characteristics and the blood pressure response to dynamic physical training. *Med Sci Sports Exerc* 2001 ; 33 : S484-92.
- 16 - Ross R, Freeman JA, Janssen II Exercise alone is an effective strategy for reducing obesity and related comorbidities. *Exerc Sports Sci Rev* 2000 ; 28 : 165-170.
- 17 - Wing RR, Hill JO Successful weight loss maintenance. *Annu Rev Nutr* 2001 ; 21 : 323-341.
- 18 - Womack CJ, Nagelkirk PR, Coughlin AM. Exercise-induced changes in coagulation and fibrinolysis in healthy populations and patients with cardiovascular disease. *Sports Med* 2003 ; 33 : 795-807.
- 19 - Lindahl B, Nilsson TK, Jansson JH *et al.* Improved fibrinolysis by intense lifestyle intervention. A randomized trial in subjects with impaired glucose tolerance. *J Intern Med* 1999 ; 246 : 105-112.

**La fonction hormonale
du sportif
(M. Duclos)**

CHAPITRE II

Introduction

L'exercice musculaire met en jeu une réponse intégrée de l'organisme faisant intervenir de façon adaptée des réponses cardio-vasculaires, respiratoires, métaboliques, neurophysiologiques, psychologiques... Les hormones sont le plus souvent les médiateurs de ces réponses coordonnées et adaptées. De plus, la réponse de l'organisme ne s'arrête pas avec la fin de l'exercice. La phase de récupération de l'exercice musculaire représente aussi une phase dynamique sur le plan hormonal et métabolique, phase pendant laquelle l'organisme s'oriente vers la reconstitution des réserves énergétiques utilisées pendant l'exercice et met en place les processus d'adaptation nécessaires à la répétition régulière ultérieure de ces exercices musculaires. La physiologie de l'exercice musculaire peut donc se définir comme l'étude de l'homéostasie liée au juste équilibre entre exercice musculaire et récupération de cet exercice musculaire. C'est la succession de séquences associant exercice et récupération de cet exercice musculaire qui conditionne la qualité de l'adaptation à l'entraînement.

Plus spécifiquement, déterminer les effets de l'entraînement musculaire régulier sur les fonctions endocrines correspond à répondre à deux questions : l'entraînement musculaire modifie-t-il la réponse hormonale à un exercice ? Et, le fait d'être entraîné peut-il modifier la sécrétion de certaines hormones au repos, c'est-à-dire en dehors de tout exercice musculaire ?

Pour répondre à ces questions, la réponse à l'exercice musculaire et les effets de l'entraînement musculaire de trois axes endocriniens : axes somatotrope, gonadotrope et corticotrope, seront discutés. Ce choix est dicté par le fait que ces axes jouent un rôle prépondérant -mais non exclusif- sur les adaptations métaboliques et structurales liées à l'entraînement musculaire.

Exercice musculaire et axe somatotrope

L'hormone de croissance (GH) est produite par les cellules somatotropes au niveau du lobe antérieur de l'hypophyse sous le double contrôle hypothalamique exercé par la Growth Hormone-Releasing Hormone (GH-RH) (stimulant la sécrétion) et la somatostatine (inhibant la sécrétion). La production de GH est pulsatile, à raison de 6 à 12 pulses par 24h.

La GH agit au niveau de ses organes cibles soit de façon directe, soit par l'intermédiaire de la stimulation d'un facteur de croissance, l'Insulin-Like Growth Factor-I (IGF-I) produit essentiellement par le foie et libéré dans la circulation, mais aussi produit localement, au niveau de chacun des organes cibles de la GH (dont le muscle squelettique).

Physiologie du contrôle de la sécrétion de GH au cours de l'exercice

Felsing *et al.* (1) et Thompson *et al.* (2) ont montré que les variations de la sécrétion de GH au cours de l'exercice musculaire étaient liées à des variations sécrétoires (pulses sécrétoires hypophysaires) et non pas à des modifications de la clairance métabolique de la GH.

A des intensités d'exercice modérées, l'augmentation - elle aussi modérée - de la sécrétion de GH est surtout due à l'activation du système cholinergique central, conduisant à une inhibition du tonus hypothalamique somatostatinergique. L'inhibition de ce tonus est un phénomène saturable, qui est pratiquement à son maximum pour des intensités d'exercice situées autour de 80% $\dot{V}O_2$ max. Le supplément d'incrément de la réponse de la GH observée pour des exercices d'intensité supérieure à 80% $\dot{V}O_2$ max, est donc du à d'autres mécanismes, tels que des mécanismes GH-RH dépendants. Dans un travail récent, Maas *et al.* (3) ont montré que la plus grande stimulation de la GH observée lors d'un exercice à intensité maximale mené jusqu'à épuisement était le fait d'une stimulation par GH-RH probablement stimulée par un autre sécrétagogue de la GH tel que le GHRP-2.

Production de GH pendant l'exercice musculaire

L'exercice musculaire représente le stimulus physiologique le plus puissant de la sécrétion de GH. Les facteurs modulant la réponse sécrétoire de GH pendant l'exercice sont nombreux. Parmi ceux-ci, l'intensité de l'exercice représente le déterminant principal de l'importance de la réponse de la GH à l'exercice musculaire. Plus l'intensité de l'exercice est élevée plus la réponse de la GH est importante (4). La réponse intégrée de la GH à 30 minutes d'exercice sur bicyclette ergométrique (réponse intégrée c'est-à-dire comprenant les 30 minutes d'exercice et les 3h30 de récupération post-exercice, la concentration de GH étant mesurée sur un prélèvement veineux réalisé toutes les 10 minutes) augmente de façon linéaire avec l'intensité de l'exercice (26, 47, 62, 76 et 90% $\dot{V}O_2$ max) (4) (Figure 1).

La plus courte durée d'exercice musculaire capable de stimuler la production hypophysaire de GH semble être 30 secondes : il s'agit d'une stimulation rapide mais associée à un exercice intense. Quand l'exercice musculaire est réalisé à une intensité moindre, la durée de l'exercice nécessaire pour stimuler la production de GH s'allonge : ainsi, pour un exercice à 40% de $\dot{V}O_2$ max, il faut au moins 60 minutes d'exercice pour observer une stimulation de la sécrétion de GH, sachant que la sécrétion sera d'autant plus importante que l'exercice sera prolongé.

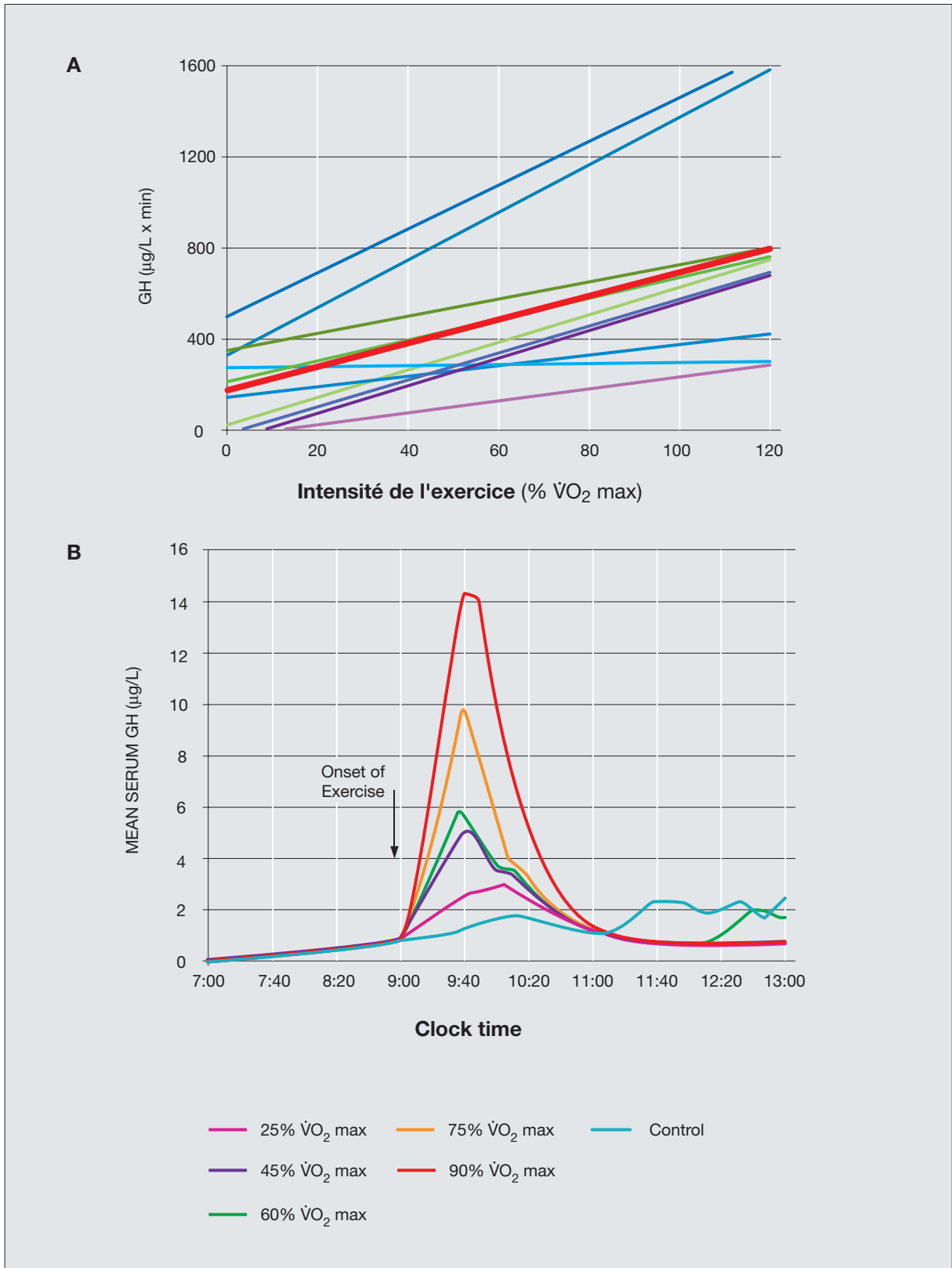


Figure 1: Relation entre l'intensité de l'exercice (exprimée en $\% \dot{V}O_2 \text{ max}$) et la réponse intégrée de la GH plasmatique (l'exercice est réalisé de 9h à 9h30 et la réponse de la GH est mesurée pendant l'exercice et jusqu'à 3h30 après l'arrêt de l'exercice). **A.** Les symboles représentent la réponse individuelle de 10 sujets à 6 exercices d'intensités différentes. La ligne en gras/rouge représente la moyenne des droites de régression de ces 10 sujets. **B.** Dynamique (pré-, per- et post-exercice) de la réponse de la GH à des exercices de 30 min d'intensité croissante (10 sujets réalisant chacun 6 exercices). (D'après (4)).

De nombreux autres facteurs peuvent moduler la réponse de la GH à l'exercice (sexe, composition corporelle, âge...). Le type de repas précédant l'exercice joue aussi un rôle qui mérite d'être rapporté. Ainsi, Cappon *et al.* (5) ont montré que le pic de sécrétion de GH secondaire à 10 min d'exercice à 70% de $\dot{V}O_2$ max était diminué de 63% après un repas riche en lipides (500 kcal correspondant à une alimentation type fast-food : un bigMac plus une part de frites). Par contre, une alimentation riche en glucides ne semble pas influencer significativement sur la sécrétion de GH stimulée par l'exercice (Figure 2).

Enfin, il faut souligner que l'entraînement ne modifie pas la réponse de la GH à l'exercice (quand l'exercice est réalisé à même puissance relative) (6). Ce qui signifie que si l'on exprime l'intensité de l'exercice en pourcentage de la capacité maximale aérobie, c'est-à-dire en pourcentage de $\dot{V}O_2$ max (par exemple : un exercice de 10 minutes de course à pied réalisé à 70% $\dot{V}O_2$ max), et non pas en valeur absolue (par exemple, 10 minutes de course à pied à une vitesse de 14 km/h), la réponse sécrétoire de la GH à l'exercice sera la même entre un sujet sédentaire et un sujet entraîné. Par ailleurs, la plupart des études ne mettent pas en évidence d'effet de l'entraînement sur la sécrétion totale de GH sur 24h.

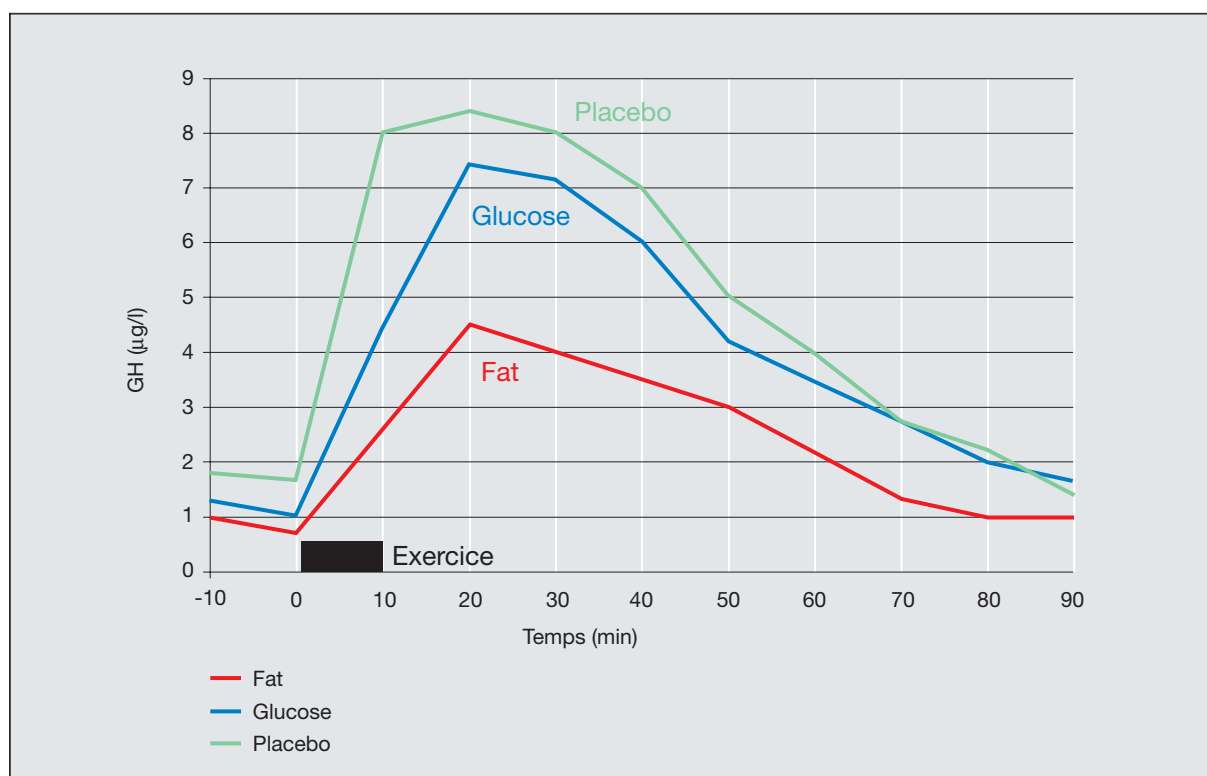


Figure 2 : Importance de la diététique dans la réponse sécrétoire de la GH à l'exercice musculaire. Evolution de la concentration plasmatique de GH après 10 min d'exercice à 70% $\dot{V}O_2$ max après un repas riche en lipides (Fat), en glucides (Glucose) ou après placebo. (D'après (5)).

Dynamique de la production de GH au décours de l'exercice

La stimulation de la sécrétion de GH liée à l'exercice se prolonge en phase de récupération de l'exercice. Ainsi, une heure après l'arrêt d'un sprint de 30 secondes, la concentration plasmatique de GH se situe à une valeur 10 fois supérieure à celle observée au repos (7). Après 10 min de course à 70% de $\dot{V}O_2$ max, le pic de sécrétion de GH est observé 30 min après arrêt de l'exercice. Après une série d'exercices de musculation (3 séries de 6 exercices réalisés à 80% de la capacité de répétition maximum), la GH est 31 fois supérieure à sa concentration de repos à l'arrêt de l'exercice et reste augmentée pendant les 60 min suivant l'arrêt de l'exercice (à la 60^{ième} min, la concentration plasmatique de GH reste 2,8 fois supérieure par rapport à sa concentration de repos) (8).

Effet de l'exercice sur la concentration plasmatique d'IGF-I

Effet d'une session d'exercice

L'exercice musculaire ne provoque pas de modification significative de la concentration plasmatique d'IGF-I lors d'exercices en résistance. Par contre, lors d'exercices en endurance, la concentration plasmatique d'IGF-I augmente en moyenne de 10% à l'arrêt d'un exercice de 10 min réalisé à forte intensité (80% $\dot{V}O_2$ max) sur bicyclette ergométrique (tandis que la concentration plasmatique de GH est multipliée par 6) avec un retour aux valeurs préexercices après 10 min de repos. Cette variation de l'IGF-I est GH-indépendante puisque la GH induit la production d'IGF-I avec un délai de plusieurs heures, d'autant plus que cette augmentation est aussi observée si on inhibe l'augmentation de la sécrétion de GH en faisant précéder l'exercice par un repas riche en lipides (9). Le mécanisme de cette variation de l'IGF-I, GH-indépendante, est mal connu (probables modifications des volumes de distribution en rapport avec l'exercice). Par contre, un travail récent de Schwarz (10) apporte une signification physiologique concrète à ces résultats. Lors de l'exercice de 10 min à 80% $\dot{V}O_2$ max décrit précédemment, si la concentration plasmatique d'IGFBP-3 varie peu au cours de l'exercice (dans le plasma, seulement 1% de l'IGF-I circule sous forme libre ; la majeure partie est liée à des protéines porteuses : les IGF-BP, représentées en majeure partie par l'IGFBP-3), l'activité protéolytique de cette protéine a augmenté de 40% au cours de l'exercice. Cela signifie qu'en fait, la fraction libre -donc active- de l'IGF-I augmente de façon importante au cours de l'exercice. Ces modifications (aiguës et de durée brève) retrouvées aussi lors d'un exercice d'intensité modérée mobilisant une faible masse musculaire (11) pourraient représenter un des mécanismes des effets anaboliques

de l'exercice musculaire. Néanmoins, l'induction d'une protéolyse d'IGFBP-3 au cours de l'exercice reste contradictoire et par exemple, elle n'est pas rapportée au cours un exercice bref et maximal (effort triangulaire)(12).

Effet de l'entraînement

Il n'a pas été démontré d'effet de l'entraînement en endurance sur la concentration plasmatique d'IGF-I, sauf chez les sujets âgés (qui ont du fait du vieillissement physiologique une concentration plasmatique d'IGF-I abaissée). Plus exactement, le fait d'être entraîné en endurance n'augmente pas la concentration plasmatique d'IGF-I au delà des valeurs de référence compte-tenu de l'âge et du sexe. Par contre, étudiant une large cohorte de 42 hommes jeunes (18-36 ans) et 26 hommes plus âgés (59-76 ans), Poehlman et Copeland (13), après avoir contrôlé les effets de l'âge par une analyse statistique appropriée, ont montré que la concentration plasmatique d'IGF-I était significativement et indépendamment corrélée à $\dot{V}O_2$ max et au temps quotidien passé à des activités physiques (l'IGF-I restant toutefois dans des valeurs physiologiques).

Seuls les programmes d'entraînement associés à une dépense énergétique non compensée par un apport alimentaire adapté, se traduisent par une diminution significative de la concentration plasmatique d'IGF-I (gymnastes féminines par exemple) (14). Des travaux récents semblent impliquer les cytokines pro-inflammatoires dans les perturbations de l'homéostasie de l'axe GH-IGF-I.

Conclusion

La GH est une hormone à forte activité anabolisante. On retiendra qu'elle est surtout sécrétée lors d'exercices musculaires intenses et que sa sécrétion s'observe au cours de l'exercice mais aussi et surtout en phase de récupération de l'exercice musculaire, moment le plus propice à l'anabolisme. Les effets de l'entraînement musculaire sur la sécrétion de GH sont la conséquence de chaque session d'exercice musculaire elle-même plutôt que liés au statut de sujet entraîné *per se*.

Exercice musculaire et axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire

Chez l'homme, la testostérone représente le principal androgène. La testostérone est sécrétée par les cellules de Leydig testiculaires, sous l'action de l'hormone lutéinisante (LH) d'origine antéhypophysaire. La sécrétion de la LH est pulsatile, en rapport avec une stimulation hypothalamique par la Gonadotrophin-releasing hormone (Gn-RH) qui s'exerce elle-aussi de façon pulsatile. La testostérone exerce un rétro-contrôle négatif au niveau hypophysaire et hypothalamique.

La testostérone circule dans le plasma principalement sous forme liée à une protéine porteuse (plus de 98% de la testostérone plasmatique est liée à une protéine) : pour 60%, il s'agit de l'albumine et pour 40% il s'agit de la Sex Hormone Binding Globulin (SHBG); le reste de la testostérone (0,5 à 3% de la concentration plasmatique totale de testostérone) est transporté sous forme libre (testostérone libre : TL). Il est intéressant de noter que toutes les publications qui ont rapporté les relations entre exercice et concentrations plasmatiques de testostérone libre ont utilisé une technique dont la reproductibilité est faible (RIA). A l'inverse, à notre connaissance, aucune étude n'a utilisé la technique de référence pour la mesure de la concentration plasmatique de la testostérone libre (dialyse à l'équilibre).

La testostérone agit sur pratiquement tous les tissus de l'organisme. L'hormone intra-cellulaire active dépend du tissu répondeur. Pour la plupart des tissus, c'est la dihydrotestostérone (DHT) qui représente la forme active de la testostérone ; la DHT est obtenue après action d'une enzyme : la 5 alpha-reductase présente dans le cytosol des cellules-cibles. Le muscle utilise directement la testostérone tandis qu'au niveau du tissu adipeux ainsi qu'au niveau de certains noyaux centraux cérébraux la testostérone est aromatisée en estradiol.

Chez la femme, les concentrations plasmatiques en testostérone sont 10 fois moindres que chez l'homme. La testostérone provient pour moitié de l'ovaire et pour moitié de la surrénale.

Production de testostérone pendant l'exercice musculaire

Au cours de l'exercice, les variations de la testostérone - en pourcentage relatif - sont identiques chez l'homme et la femme. De plus, l'évolution de la testostérone libre suit en parallèle celle de la testostérone totale (15).

Les facteurs contrôlant la sécrétion de testostérone pendant l'exercice musculaire sont multiples.

• Interactions durée et intensité de l'exercice :

Pour un exercice de durée moyenne (30 min à 2h) (d'intensité modérée à forte), on observe une augmentation de la concentration plasmatique de testostérone (objectivable dès la trentième minute d'exercice, puis maintien en plateau de la testostéronémie) (Figure 3). Cette augmentation n'est pas liée à une sécrétion augmentée mais à une réduction de la clairance métabolique hépatique de la testostérone liée à l'exercice. La réduction du métabolisme splanchnique de la testostérone est liée à une diminution du débit sanguin pendant l'exercice, au profit des tissus directement impliqués par l'exercice (cœur, muscles squelettiques...). Sutton *et al.* (16) ont montré que la réduction de cette clairance pouvait majorer les concentrations plasmatiques de testostérone libre de 50%.

Quand l'exercice se prolonge, généralement au-delà de 2h voire après 4h, après une augmentation transitoire de la testostéronémie, on observe secondairement une diminution de la concentration plasmatique de testostérone. Parfois le retour à la testostéronémie initiale, préexercice, peut être retardé de plusieurs heures après arrêt de l'exercice. Cette suppression- transitoire- de la production de testostérone serait plus faible voire parfois absente chez le sujet entraîné en endurance, suggérant des adaptations à long terme de l'axe gonadotrope avec l'entraînement physique continu (17).

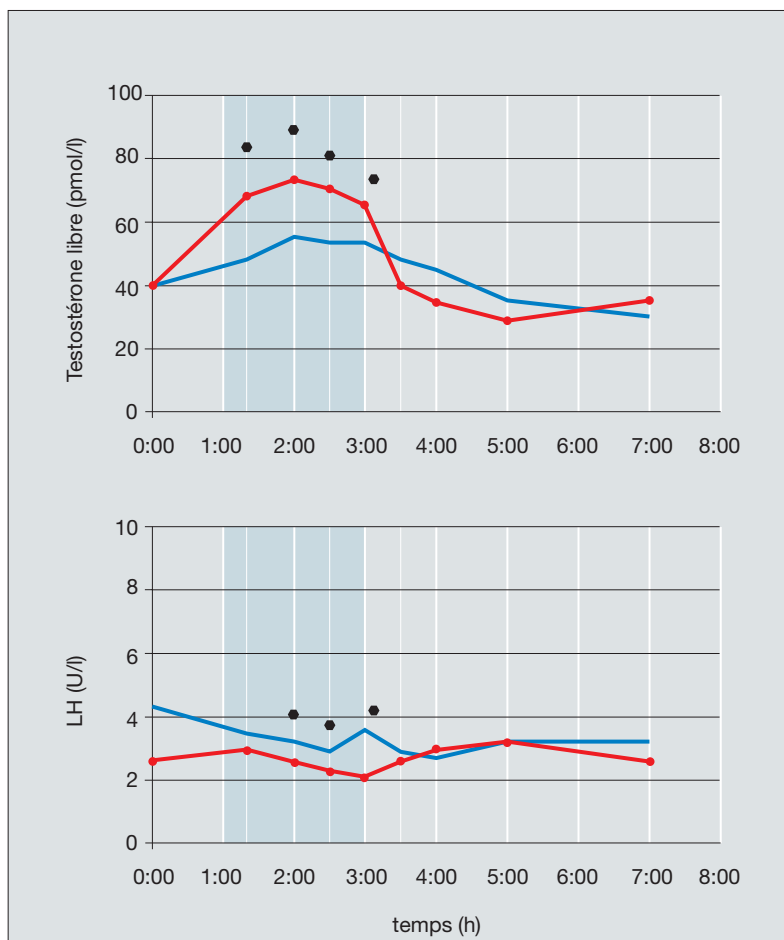


Figure 3 : Evolution de la concentration plasmatique de testostérone libre (figure du haut) et de LH (figure du bas) lors d'une journée comprenant un exercice de 120 minutes à 80% $\dot{V}O_2$ max (I) [période 1:00 à 3:00] par comparaison aux valeurs observées lors d'une journée-contrôle de repos (0), chez des sujets entraînés en endurance.
* : $p < 0,05$, journée avec exercice vs journée-contrôle de repos
(D'après (21)).

Cette baisse de la testostéronémie a une double origine : centrale par diminution de la sécrétion hypothalamique de GnRH (tandis que la capacité hypophysaire à produire et sécréter des gonadotrophines reste normale (18)), et périphérique, testiculaire, par diminution du nombre de récepteurs à la LH. Ce dernier mécanisme expliquerait les résultats constatés par plusieurs auteurs (19) selon lesquels la capacité maximale de stéroïdogénèse testiculaire est altérée pendant les premières heures de récupération suivant un exercice musculaire.

La diminution de la testostéronémie permettrait de dévier l'utilisation des acides aminés de la voie de la synthèse protéique vers la voie de la néoglycogénèse afin de recharger en glycogène les réserves de l'organisme (20).

- **Effets de l'entraînement :**

La réponse de la testostérone à l'exercice ne dépend pas du niveau d'entraînement. Par contre, l'entraînement peut induire des modifications des concentrations plasmatiques de testostérone mesurées au repos, à distance de tout exercice. En effet, plusieurs auteurs ont rapporté une diminution des concentrations plasmatiques de testostérone avec la pratique régulière de l'exercice musculaire en endurance (mais pas avec l'entraînement de musculation). La diminution de la testostéronémie (totale et libre par RIA) semble être proportionnelle à la charge de l'entraînement et apparaîtrait en moyenne autour de 100 km de course à pied par semaine, avec une forte variabilité interindividuelle dépendant de la qualité de la récupération, cette dernière étant elle-même conditionnée par des facteurs autres que l'exercice musculaire (charges professionnelles, vie familiale). Ceci pourrait aussi expliquer les résultats parfois contradictoires entre les différentes études. Dans tous les cas, il ne s'agit pas d'un effondrement des concentrations plasmatiques de testostérone mais de valeurs situées en dessous de la limite inférieure de la normale. Cette baisse de la testostérone concerne la testostérone totale et la testostérone libre alors que la SHBG n'est pas différente de celle mesurée chez des sujets sédentaires (21). Ce profil androgénique s'associe à une concentration plasmatique de LH non augmentée, suggérant une origine haute hypothalamo-hypophysaire. Certains auteurs ont proposé que la diminution modérée mais significative de la testostéronémie chez le sujet entraîné en endurance pourrait correspondre à une adaptation de l'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire à l'entraînement en endurance (ce qui limiterait le gain de masse musculaire, par une masse musculaire trop importante nécessitant une consommation d'oxygène élevée qui pourrait réduire la performance en endurance). En faveur de cette adaptation (qui reste néanmoins à prouver), il n'y a actuellement pas d'argument pour démontrer que cette baisse de la testostéronémie a des conséquences chez le sujet entraîné en endurance. Ainsi, Ayers (22) dans une étude portant sur 20 marathoniens comparés à 10 adultes sédentaires n'a pas retrouvé, en comparant les résultats du spermogramme de chaque individu à leur concentration plasmatique de testostérone, de corrélation entre testostéronémie et nombre de spermatozoïdes. Dans cette étude, comme dans celles retrouvant les mêmes résultats, aucun des sportifs n'a signalé d'impuissance ni d'infertilité. Par contre, selon De Souza *et al.* (23), il semblerait exister une charge d'entraînement (plus de 100 km courus par semaine chez des athlètes non professionnels) au-delà de laquelle des anomalies du spermogramme seraient objectivées (diminution de la mobilité des spermatozoïdes et augmentation du nombre de cellules immatures). Néanmoins, ces altérations sont considérées

comme infracliniques car elles ont peu de conséquences sur la fertilité. Par contre, à notre connaissance, il n'existe pas d'étude relatant les conséquences éventuelles à long terme de la baisse -modérée- de la testostéronémie, en particulier en ce qui concerne le métabolisme osseux ou la capacité de réparation musculaire.

Parmi les étiologies de cette hypotestostéronémie, on ne peut exclure, en seconde hypothèse, le rôle que la diététique pourrait jouer dans la réponse de la testostérone à l'entraînement. Plusieurs auteurs ont rapporté une diminution de la testostéronémie de repos chez des sujets dont les lipides représentaient 20% de leurs apports alimentaires par rapport à des sujets dont les lipides constituaient 40% de leur apport alimentaire (24). Les résultats récents de Volek *et al.* (25) confirment aussi ces données chez des sujets entraînés en résistance. Au repos, en dehors de tout exercice, leur concentration plasmatique de testostérone est significativement corrélée au pourcentage de lipides dans leur alimentation ($r=0.72$) (Figure 4). Sebokova *et al.* (26) ont démontré que l'ingestion de diètes avec différentes compositions de lipides modifiait la composition de la membrane plasmique testiculaire et conduisait à des modifications de la réponse des cellules de Leydig à la stimulation par les gonadotrophines hypophysaires (LH) et donc, en conséquence, influait sur la synthèse de testostérone. Les protéines jouent aussi un rôle important. Une alimentation pauvre en protéines (10% de la ration alimentaire) est associée à une concentration plus élevée de testostérone au repos par rapport à une alimentation riche en protéines (44%) (27). Volek *et al.* (25) retrouvent aussi cette corrélation chez les sujets entraînés en résistance ($r=-0.71$). Ce serait surtout le rapport protéines/glucides de l'alimentation qui influencerait soit sur le métabolisme de la testostérone soit sur la synthèse hépatique de la SHBG. Ces données sont particulièrement intéressantes quant on sait que certains athlètes entraînés en endurance (en particulier les marathoniens) ont souvent une alimentation pauvre en lipides et enrichie en fibres et glucides. Chez certains sujets pratiquant aussi l'haltérophilie, le rapport protéines/glucides est aussi particulièrement élevé.

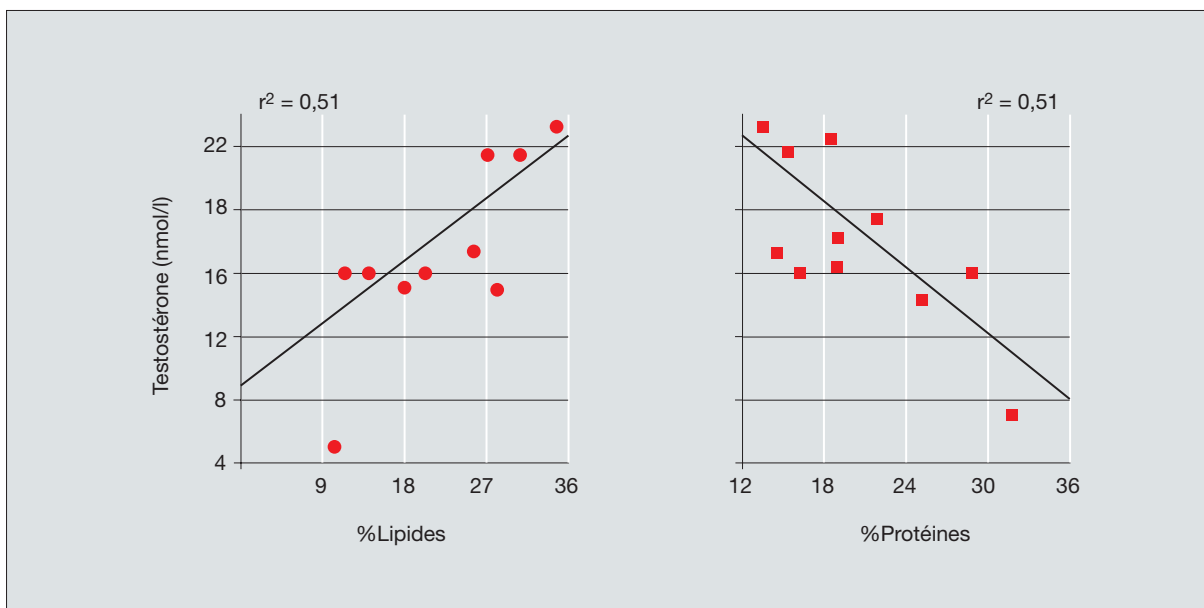


Figure 4 : Relations entre diététique (pourcentage de lipides et pourcentage de protéines de la ration alimentaire) et concentrations plasmatiques de testostérone totale au repos chez des sujets entraînés en résistance. (D'après (25)).

Conclusion

Exercice musculaire et entraînement ont un impact important et réciproque sur l'axe gonadotrope. Néanmoins, la physiologie de l'axe gonadotrope liée à la pratique régulière de l'exercice musculaire reste encore très descriptive. Elle doit se soumettre à des protocoles expérimentaux rigoureux afin de préciser les limites entre physiologie et physiopathologie.

Axe gonadotrope : Particularités de la femme

Chez la femme, la question la plus fréquemment posée est de déterminer quels sont les effets de l'entraînement sur la fonction gonadique ?

La revue de la littérature montre que l'initiation d'un entraînement intense ainsi qu'une participation régulière à un entraînement intense peuvent conduire à des anomalies de la fonction ovarienne allant de l'insuffisance lutéale à l'anovulation puis, dans les cas extrêmes, à l'aménorrhée.

La fréquence de l'aménorrhée varie suivant les études. On peut néanmoins la situer entre 34 et 79% dans la population des danseuses de ballet, autour de 26% chez les marathoniennes et, en ce qui concerne les sports non portant (natation et cyclisme) autour de 12% (28).

Un travail récent de De Souza *et al.* (29) permet de préciser l'impact de l'exercice régulier sur l'axe gonadotrope chez la femme. Ce travail remarquable a d'abord pour premier intérêt de démontrer qu'une durée normale du cycle n'est pas un bon critère pour présumer de la normalité et donc du caractère ovulatoire d'un cycle. Onze femmes sédentaires et 24 femmes pratiquant régulièrement la course à pied ont été recrutées sur les critères suivants : cycles réguliers, aucun antécédent gynécologique, pas de variation de poids récente, pas d'antécédent de troubles alimentaires, pas de traitement médicamenteux. Par ailleurs toutes ces femmes avaient une durée de cycle normale soit plus de 20 jours et moins de 38 jours. Il est important de préciser que le groupe exercice (Ex) était composé de femmes considérées comme des "sportives de loisirs" c.a.d. ayant une activité physique modérée (en moyenne, 32 km courus par semaine). Deuxième élément fondamental de l'étude : ces femmes ont été suivies sur 3 cycles consécutifs, avec des recueils urinaires nocturnes répétés pour y doser FSH, LH, l'excrétion urinaire des métabolites de l'estradiol et de la progestérone.

Les résultats sont représentés au **Tableau 1**.

	Cycles ovulatoires	Insuffisance lutéale	Cycles anovulatoires
Sédentaires (n=11)	90%	0%	0%
Exercice (n=23)	45%	48 (79%)	12%

Ainsi, bien que toutes les femmes de cette étude se présentaient comme ayant des cycles réguliers, et de longueur normale, leur fonction ovarienne était hautement variable et fréquemment anormale. En ce qui concerne l'insuffisance lutéale, la prévalence était de 48% alors que l'incidence sur 3 cycles consécutifs était de 79%.

La transduction des potentiels effets délétères de l'entraînement en endurance se situe au niveau du générateur hypothalamique de GnRH avec des modifications de la pulsativité de GnRH, conduisant à une diminution voire une abolition de la pulsativité de LH. Dans cette étude de De Souza, une seconde anomalie a été mise en évidence : il s'agissait d'une plus faible sécrétion de FSH. Ces anomalies de la sécrétion de FSH pourraient aussi avoir un impact significatif sur l'ovaire en altérant la folliculogénèse. Elles pourraient agir en concert avec anomalies de la pulsativité de LH pour altérer la fonction ovarienne chez la femme pratiquant l'exercice musculaire régulier.

Physiopathologie

Ces modifications de la fonction ovarienne chez la femme sont en rapport avec le métabolisme énergétique et non pas avec le stress de l'exercice (hyperthermie, sécrétion prolongée et répétée de cortisol...). Les adaptations neuroendocrines à une prise alimentaire insuffisante (et non pas à l'exercice musculaire régulier) sont la clé du problème ovarien chez les femmes pratiquant l'exercice musculaire régulier. On peut en effet reproduire les anomalies neuroendocrines (en particulier la diminution de la pulsativité de LH) chez des femmes sédentaires en induisant un déficit énergétique mais pas si ces femmes sont soumises au même entraînement musculaire sans déficit énergétique associé (30). En d'autres termes, les troubles du cycle (témoins d'un dysfonctionnement hypothalamique) associés à la pratique régulière de l'exercice musculaire sont dûs à une inadéquation chronique entre apports alimentaires et dépense énergétique augmentée liée à l'exercice musculaire. Dans l'étude de De Souza, la balance énergétique se négativait de façon croissante quand on allait du groupe exercice-cycles ovulatoires au groupe exercice-insuffisance lutéale puis exercice-cycles anovulatoires.

Le lien entre ce déficit énergétique et métabolique et le système endocrinien est aussi clairement démontré dans le cas de l'aménorrhée de la sportive.

L'Aménorrhée de la sportive

Laughlin et Yen (31) ont comparé 3 groupes de femmes : femmes sédentaires avec cycles réguliers (CS), athlètes avec cycles réguliers (CA), et athlètes aménorrhéiques (AA). Leurs âge, poids, taille et indice de masse corporelle étaient semblables. Mais dans les 2 groupes d'athlètes il existait des adaptations neuroendocrines et métaboliques en rapport avec le coût énergétique élevé de l'activité physique (1000kcal de dépense énergétique supplémentaire par jour en rapport avec l'activité sportive avec cependant un apport alimentaire quotidien quantitatif identique entre les sportives et les sédentaires), mais ces modifications étaient beaucoup plus importantes chez les AA que chez les CA (Tableau II).

Tableau II : Caractéristiques des CS, CA et AA (d'après (31))

	CS (n=8)	CA (n=8)	AA (n=8)
Age (années)	27.5±1.8	30.7±1.2	26.3±1.5
BMI (kg/m ²)	20.2±0.6	19.6±0.4	19.4±0.6
Masse grasse (kg)	13.1±1.1	9.1±0.9a	8.6±0.9 a
% masse grasse	23.4±0.9	15.9±1.3 a	16.0±1.5 a
Apport calorique (kcal/j)	1597±133	1739±100	2106±190
Exercice (kcal/j)	62±19	906±68 a	1074±106 a
% lipides alimentaires	31.6±1.9	24.4±2.8 a	13.2±1.7 a,b

a : P<0.05 vs CS; b : P<0.05 vs CA

Chez les AA, les auteurs ont objectivé un état d'hypométabolisme avec une diminution de la température corporelle, de la glycémie, du ratio IGF-I/IGFBP-1, accélération de la fréquence des pulses de GH, et élévation de la concentration basale interpulses de GH. Par ailleurs, l'augmentation de la sensibilité à l'insuline, la diminution de l'insulinémie, la réduction de l'effet hypoglycémiant de l'IGF-I concomitant avec une augmentation du cortisol et de la GH pourraient correspondre à une cascade d'adaptations de la glycorégulation afin de répartir les sources métaboliques pour conserver les protéines de l'organisme. Enfin, il existait une diminution de la pulsativité de la GnRH, cette diminution étant significativement plus marquée chez les AA que chez les CA.

Tous ces résultats montrent l'implication des facteurs nutritionnels (déficit nutritionnel global par rapport aux dépenses énergétiques et déficit qualitatif en apport lipidique et protéique) dans les anomalies de l'axe gonadotrope et, plus particulièrement, les troubles de la pulsativité du GnRH hypothalamique chez l'athlète féminine. Restait à trouver le lien entre le déficit énergétique et les modifications de la pulsativité de GnRH. Ce lien se fait par la leptine, l'hormone du tissu adipeux. La sécrétion de leptine est sous contrôle de la balance énergétique et de la quantité de tissu adipeux. Il existe par ailleurs des récepteurs à la leptine au niveau de l'hypothalamus et au niveau de l'ovaire. Les athlètes pourraient représenter un modèle dans lequel la leptine agit comme un signal métabolique pour l'axe gonadotrope. La moyenne de la concentration plasmatique de leptine (un prélèvement toutes les 10 minutes) sur 24h est trois fois plus faible chez les athlètes (CA et AA), indépendamment de leur statut ovarien, par rapport à celle des sédentaires (CS) (31). Cette moyenne des 24h est inversement corrélée à la masse grasse. Il existe par ailleurs un rythme nycthéméral de la leptine avec approximativement une augmentation de 50% entre le nadir (à 9h) et le pic de concentration (à 1h). Ce rythme nycthéméral retrouvé chez les CS, CA est par contre totalement aboli chez les AA.

Pour finir de boucler les relations entre déficit énergétique, hypoleptinémie et aménorrhée de la sportive, l'équipe de Hilton et Loucks (30) a réalisé un dernier travail. L'objectif était de démontrer que c'était bien la baisse de la disponibilité énergétique (le déficit énergétique) et non pas le stress de l'exercice qui était responsable de l'hypoleptinémie et des modifications de son rythme nycthéméral. Neuf femmes sédentaires ont été explorées à 4 reprises dans un protocole combinant variations de la disponibilité énergétique (normale vs basse) et variations du niveau d'exercice musculaire (sédentarité vs 4 jours d'exercices à raison de 30 min de marche par jour à 70% $\dot{V}O_2$ max). Le coût énergétique de l'exercice était de 30 kcal/kg masse maigre par jour. On obtenait donc 4 groupes : sédentaires avec apport énergétique normal (45 kcal/kg de masse maigre/jour), sédentaires avec apport énergétique insuffisant (10 kcal/kg de masse maigre d'où un déficit énergétique de 35 kcal/kg de masse maigre/jour), exercice avec apport énergétique normal (45+30 soit 75 kcal/kg de masse maigre/jour), exercice avec apport énergétique insuffisant (40 kcal/kg de masse maigre d'où un déficit énergétique de 35 kcal/kg de masse maigre). Dans les 2 groupes (sédentaire vs exercice) avec apport énergétique insuffisant, le déficit énergétique total était donc le même. A la fin du 4^{ième} jour, les femmes étaient admises dans le Centre de Recherche pour mise en place d'un cathéter permettant un prélèvement sanguin toutes les 10 min sur une durée totale de 24h.

Les résultats sont exprimés au [Tableau III](#).

Tableau III : Paramètres de la leptinémie après variations de l'apport énergétique (d'après (30)).

	Sédentaires		Exercice	
	Normal	Insuffisant	Normal	Insuffisant
Leptine (ng/ml)				
Moyenne des 24-h	14.3 ± 1.8	10.5 ± 1.6*	15.0 ± 1.8	8.2 ± 1.4*
Amplitude	4.6 ± 0.7	3.9 ± 0.6*	4.6 ± 0.6	2.8 ± 0.6*

* : $p < 0.05$: apport énergétique normal vs apport énergétique insuffisant

Leptinémie moyenne des 24h et rythme nyctéméral de la leptine sont normaux lorsque les dépenses énergétiques sont adéquatement compensées par les apports alimentaires, chez les femmes sédentaires. Par contre, toujours chez ces femmes sédentaires, le déficit énergétique abolit le rythme nyctéméral de la leptine. Le stress de l'exercice en lui-même (les auteurs entendent par "stress de l'exercice" tout ce qui peut être associé à l'exercice, physiquement et psychologiquement, à l'exception de son coût énergétique, puisque cette dernière variable a été contrôlée et manipulée au cours de l'expérimentation) n'a aucun effet supprimeur sur la moyenne de la leptinémie des 24h ni sur l'amplitude des variations du rythme nyctéméral de la leptine. L'effet possiblement supprimeur de l'exercice sur la leptinémie a été prévenu en enrichissant l'apport alimentaire de ces femmes de façon à compenser l'augmentation de leur dépense énergétique. Ainsi, exercice musculaire et leptinémie et/ou amplitude des variations nyctémérales de la leptine sont liées uniquement par l'intermédiaire du coût énergétique de l'exercice.

Au total, ces résultats soulignent le lien existant entre les adipocytes, le statut nutritionnel et l'intégrité de l'axe gonadotrope chez l'humain (Figure 5).

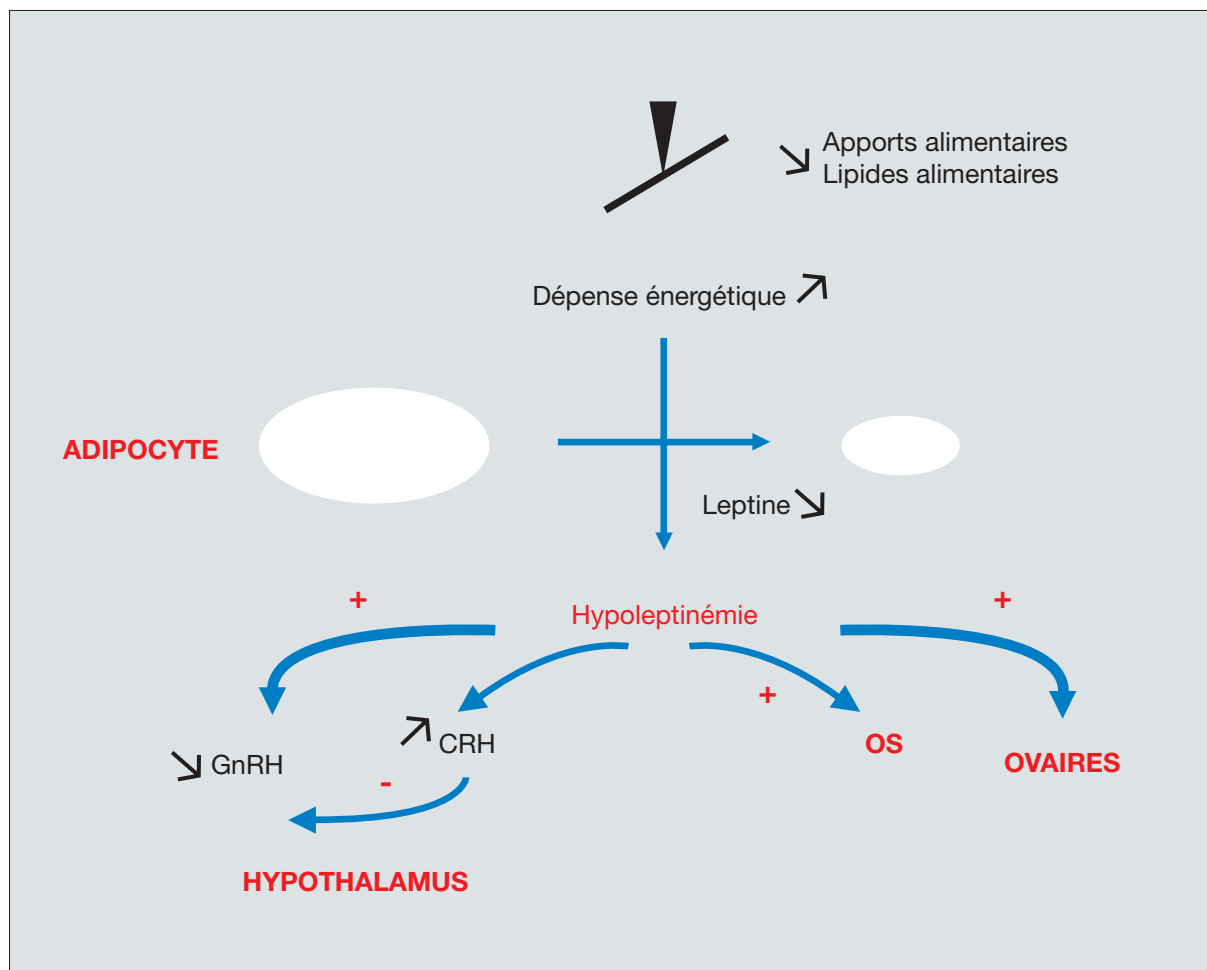


Figure 5 : Hypothèse physiopathologique de l'aménorrhée de la sportive.

Chez les sportives en aménorrhée, il existe un déficit énergétique chronique lié à une inadéquation entre les dépenses énergétiques et les apports alimentaires. Ce déficit énergétique conduit à une diminution de la masse grasse d'où une hypoleptinémie (la diminution de la taille des adipocytes, par diminution de leur contenu en triglycérides, se traduit par une diminution de la production adipocytaire de leptine). Les sites d'action de la leptine sont multiples. Au niveau de l'hypothalamus, la leptine a un effet permissif sur la sécrétion hypothalamique de GnRH (hormone hypothalamique qui contrôle la sécrétion des hormones sexuelles *via* FSH et LH). De plus, en périphérie, la leptine a un effet direct sur l'ovaire, favorisant la folliculogénèse. Enfin, il a récemment été démontré la présence de récepteurs à la leptine au niveau de l'os, suggérant que l'hypoleptinémie pourrait être un second facteur - après l'hypoestrogénie - impliqué dans l'ostéoporose associée à l'aménorrhée. L'hypoleptinémie va conduire en premier lieu à une diminution voire une abolition de la sécrétion de GnRH.

Exercice musculaire et activation fonctionnelle de l'axe corticotrope

Physiologie de l'activation corticotrope pendant l'exercice musculaire

L'activation de l'axe corticotrope représente une réponse physiologique à la demande énergétique, métabolique, vasculaire... voire parfois psychologique, de l'exercice musculaire.

La dynamique temporelle de l'activation de l'axe corticotrope pendant l'exercice associe stimulation de la co-sécrétion de CRH et d'AVP (avec un rôle prépondérant de l'AVP sur le CRH) (32), production d'ACTH par les cellules corticotropes hypophysaires précédant l'augmentation du cortisol plasmatique. Ce que confirment de façon indirecte les travaux de Cashmore *et al.* (33) qui ont montré que les variations de la cortisolémie au cours de l'exercice étaient liées aux variations de la sécrétion de cortisol et non pas à des modifications de sa clairance.

Les facteurs impliqués dans la stimulation des neurones à CRH et des neurones à AVP sont multiples : baisse de la glycémie lors d'exercices prolongés, variation du volume et de l'osmolarité plasmatiques lors d'exercices intenses, interaction avec les catécholamines centraux...

Mise en jeu de l'activation corticotrope au cours de l'exercice musculaire

• Facteurs liés à l'exercice musculaire

Deux facteurs influent sur l'importance de la production de cortisol (et donc de l'activation corticotrope) pendant l'exercice musculaire : l'intensité et la durée de l'exercice. Ces deux facteurs sont indissociables. L'augmentation de la concentration plasmatique d'ACTH et de cortisol est liée de façon linéaire au pourcentage de $\dot{V}O_2$ max atteint à l'exercice (6).

• Effets de l'entraînement

A même intensité relative (exprimée en pourcentage de $\dot{V}O_2$ max), la réponse de l'axe corticotrope (ACTH et cortisol) à l'exercice est identique entre sujets entraînés et non entraînés (6). Cette notion d'intensité relative apparaît fondamentale. Car si courir pendant 30 minutes à 10km/h réalise une charge absolue identique pour deux individus, dont l'un

atteint sa puissance aérobie maximale à 20km/h et l'autre à 14km/h, le premier fera 30 minutes de course à 50% $\dot{V}O_2$ max contre 70% pour le second. Les contraintes physiques et psychologiques ne sont pas les mêmes. Or la sécrétion de cortisol à l'exercice dépendant de l'intensité de l'exercice, la concentration plasmatique de cortisol sera supérieure chez le sujet moins entraîné. Ce qui explique les résultats rapportés par les premiers auteurs relatant une diminution de la réponse hormonale à l'exercice avec l'entraînement (34). Ce phénomène n'est pas retrouvé quand on utilise des charges relatives (exprimées en pourcentage de $\dot{V}O_2$ max) au lieu de charges absolues.

Dynamique de la production de cortisol en rapport avec l'exercice musculaire

- *Avant l'exercice :*

L'entraînement en endurance peut conduire à une augmentation anticipatoire de la cortisolémie avant un exercice intense (17).

- *Récupération post-exercice :*

Il existe généralement un délai entre l'arrêt de l'exercice et le retour de la cortisolémie à ses valeurs de repos. Cependant, même après un exercice intense et prolongé (4 heures), ce délai ne dépasse pas les 120 à 150 minutes après l'arrêt de l'exercice (35-37).

Adaptation de l'axe corticotrope à l'entraînement en endurance

L'entraînement en endurance est de durée prolongée (souvent >1h), de façon quotidienne, voire biquotidienne dans le cas de sportifs de haut niveau. De ce fait, les sujets entraînés en endurance sont soumis à des activations répétées et prolongées de l'axe corticotrope. Paradoxalement, ces sujets ne présentent pas de signes cliniques ni biologiques évoquant un hypercorticisme.

Il est important de souligner que chez le sujet entraîné en endurance, lors d'une journée sans exercice, l'activité de l'axe corticotrope est normale. En effet, les résultats des différentes investigations menées dans le laboratoire démontrent de façon constante qu'au repos, lors d'une journée sans activité physique, le sujet entraîné en endurance a un cortisol plasmatique à 8h normal, un cycle nyctéméral du cortisol respecté et un cortisol libre urinaire (CLU) des 24h normal (CLU des 24h : témoin de la sécrétion intégrée des 24h du cortisol) (35,36,38-40). Enfin, le rapport cortisol total /cortisol libre est identique à celui observé chez les sujets sédentaires, suggérant que la biodisponibilité du cortisol n'est pas augmentée chez les sujets entraînés en endurance (36).

En revanche, l'effet sur le CLU des 24h au cours desquelles un exercice d'intensité et/ou de durée suffisantes pour activer l'axe corticotrope est réalisé est encore mal défini car peu étudié. Notre équipe a rapporté que chez des nageurs d'élites pendant une journée de compétition, le CLU des 24h restait dans les valeurs normales du laboratoire (44). De plus, en comparaison avec des sujets sédentaires (résultats personnels), les sujets entraînés en endurance ont, pour la plupart d'entre eux, un CLU des 24h similaire. Ces résultats concordent avec l'absence de différence de CLU des 24h entre deux journées avec entraînement intense et deux journées de repos chez des femmes ayant des cycles réguliers et courant plus de 92km par semaine depuis au moins 12 mois, ni entre deux jours d'entraînement intense chez ces mêmes femmes sportives et deux jours de repos chez des femmes sédentaires (23). A notre connaissance, une seule étude a rapporté que l'augmentation du CLU des 24h coïncidait de façon très précise avec les changements d'intensité et de volume d'entraînement chez des cyclistes (41). Néanmoins, les résultats de cette étude doivent être interprétés avec précaution car après une période de repos prolongée (fin de la saison de compétition) et avant la reprise de l'entraînement, les cyclistes avaient déjà un CLU des 24h significativement plus élevé que celui des sédentaires auxquels ils étaient comparés (111.4 ± 8.6 nmol/24h vs 74.8 ± 10.4 nmol/24h, cyclistes vs sédentaires, $P < 0.05$).

Au-delà de ces augmentations transitoires de cortisol liées à l'exercice qui peuvent induire dans certains cas une augmentation du CLU des 24h par rapport à des sujets sédentaires et parfois (et non pas de façon systématique) une augmentation du CLU des 24h au-delà des normes du laboratoire, la question se pose de savoir dans quelle mesure l'entraînement en endurance induit seulement des modifications transitoires (le jour de l'exercice) ou des modifications plus durables de la physiologie de l'axe corticotrope et/ou du set point pour la sécrétion de cortisol quotidienne.

Plusieurs études récentes montrent que quand l'axe corticotrope des sujets entraînés en endurance est stimulé de façon physiologique (exercice musculaire) ou pharmacologique, ces sujets se différencient des sujets sédentaires. Ces différences témoignent d'une adaptation réussie de l'axe corticotrope à des stimulations répétées. Elles sont illustrées par le travail suivant dans lequel des sujets masculins sédentaires et marathoniens sont venus à deux reprises au laboratoire : la première fois pour la réalisation de prélèvements au repos de 8h à 17h, afin d'établir un cycle nyctéméral du cortisol, et la seconde fois pour réaliser un exercice de 2h de course à 65% $\dot{V}O_2$ max entre 8 et 10h (35). Lors de la journée contrôle de repos, il existe une diminution de la cortisolémie entre 8h et 17h liée au cycle

nycthéméral du cortisol, avec néanmoins un pic de sécrétion à 13h lié à l'effet stimulant physiologique du repas. Une semaine plus tard, les mêmes sujets ont réalisé 2 heures d'exercice musculaire 5 heures avant le repas (de 8h à 10h). A 13h, on n'observe plus la stimulation de la sécrétion de cortisol induite par l'alimentation car cette stimulation survient alors que le cortisol est augmenté (2 heures après l'arrêt de l'exercice, la cortisolémie est deux fois plus élevée que lors de la journée contrôle) et exerce un rétrocontrôle négatif sur l'axe corticotrope. Dans ce contexte, malgré la stimulation du repas, les sédentaires ne peuvent dépasser l'inhibition exercée par l'augmentation prolongée du cortisol. Ce n'est pas le cas chez les sujets entraînés en endurance. Ils ont aussi une cortisolémie augmentée avant le repas mais ils peuvent échapper au rétro-contrôle négatif exercé par l'augmentation du cortisol pour répondre à une stimulation ultérieure (Figure 6).



Figure 6 Evolution de la concentration plasmatique de cortisol et d'ACTH lors d'une journée comprenant un exercice de 120 minutes à 65% $\dot{V}O_2$ max (D4) [période 1:00 à 3:00] par comparaison aux valeurs observées lors d'une journée-contrôle de repos (D0), chez des sujets entraînés en endurance (colonne de droite) et des sujets sédentaires (colonne de gauche).

* : $p < 0,05$, journée avec exercice vs journée-contrôle de repos. La flèche (\uparrow) représente la prise du repas. (D'après (35)).

Parmi les mécanismes pouvant expliquer cette diminution de la sensibilité hypothalamo-hypophysaire au rétrocontrôle négatif exercé par les glucocorticoïdes chez les sujets entraînés en endurance, il faut privilégier le rôle de l'augmentation de la co-sécrétion de sécrétagogues de l'ACTH tels que la vasopressine qui est moins sensible au rétrocontrôle exercé par les glucocorticoïdes que ne l'est le CRH. Ainsi les sujets entraînés en endurance auraient un ratio vasopressine/CRH plus élevé que les sujets sédentaires (32).

Néanmoins, un autre travail dans lequel des marathoniens avaient réalisé un test de freinage à la dexaméthasone a montré que tous les sujets entraînés en endurance étaient correctement freinés par la dexaméthasone, ce qui suggère que ces sujets ont une valeur de consigne ("set-point") identique à celui des sédentaires (42). En revanche, les sujets entraînés en endurance sont capables d'échapper au rétrocontrôle négatif exercé par les glucocorticoïdes.

Etant donné d'une part, l'action antagoniste du cortisol sur les processus anaboliques (muscle, os...) et ses effets immunosuppresseurs, et d'autre part, l'absence de tels signes cliniques chez le sujet entraîné en endurance soumis à des périodes transitoires mais répétées d'hypercortisolisme, l'objectif du travail de Duclos *et al.* (36,39,40) a été de rechercher les mécanismes de protection mis en place par l'organisme. Cette question de la stratégie mise en place pour se protéger des potentiels effets délétères d'une exposition répétée et prolongée à des concentrations augmentées de cortisol peut être résolue quand on étudie la sensibilité tissulaire aux glucocorticoïdes permettant d'accéder à un autre niveau d'action du cortisol, en aval de la mesure de la simple concentration plasmatique de cortisol. Il a été montré que la sensibilité des monocytes aux glucocorticoïdes était un bon reflet de la sensibilité du tissu immunitaire à ces glucocorticoïdes (43). C'est la raison pour laquelle, Duclos *et al.* (36,39) ont utilisé l'inhibition *in vitro* par la dexaméthasone de la production d'IL6 par des monocytes en cultures stimulés par le lipopolysaccharide (LPS). La réponse a été étudiée chez six sédentaires et six sujets entraînés en endurance à 8h c'est-à-dire 24h après arrêt de tout exercice chez les sujets entraînés. Pour tester la plasticité de cette sensibilité monocyttaire chez les sujets entraînés, après le prélèvement de 8h, un exercice de course à pied à 65% $\dot{V}O_2$ max a été réalisé entre 8 et 10h, puis les sujets sont restés au repos entre 10h et 12h, heures auxquelles ont eu lieu les deuxième et troisième prélèvements. Les résultats obtenus à 10h et 12h ont été comparés à ceux observés chez les sédentaires à la même heure mais après, respectivement 2h et 4h de repos assis. A 12h, après le troisième prélèvement, un déjeuner standard a été pris au laboratoire. Puis, de 12h à 18h, les sujets des deux groupes sont restés au repos assis au laboratoire jusqu'au dernier prélèvement de 18h.

Les résultats montrent que chez les marathoniens, soumis à des stimulations répétées de l'axe corticotrope en rapport avec l'entraînement en endurance, 24h après le dernier exercice, la sensibilité des monocytes aux glucocorticoïdes est diminuée : les monocytes des sujets entraînés sont moins sensibles à l'inhibition par la dexaméthasone de la production d'IL6, par rapport aux sujets sédentaires. Par ailleurs, 2h d'exercice musculaire induisent une augmentation de la sensibilité monocyttaire aux glucocorticoïdes, celle-ci atteignant un niveau de sensibilité identique à celui mesuré chez les sujets sédentaires à la même heure. Cet effet de l'exercice se prolonge à 12h, c'est-à-dire 2 h après l'arrêt de l'exercice. Enfin, à 18h, la sensibilité des monocytes aux glucocorticoïdes des sujets entraînés en endurance a à nouveau diminué par rapport aux résultats observés chez les sédentaires à la même heure (36;39).

Au total, ces résultats suggèrent que chez des sujets soumis à des stimulations répétées de leur axe corticotrope, la sensibilité aux glucocorticoïdes de leurs monocytes est diminuée. Chez ces sujets entraînés en endurance, une session d'exercice musculaire augmente la sensibilité des monocytes jusqu'au niveau observé chez des sujets contrôles sédentaires. Il existe donc une plasticité de la sensibilité monocyttaire aux glucocorticoïdes chez le sujet entraîné en endurance, ces variations étant calquées sur celles des concentrations de cortisol salivaires et plasmatiques (augmentées à 10h et 12h, et normales à 8h et 18h : cf [Figure 7](#)) . Bien que des modifications de la sensibilité aux glucocorticoïdes aient été décrites en pathologie, il s'agit des premiers travaux rapportant des changements rapides de cette sensibilité chez des sujets sains.

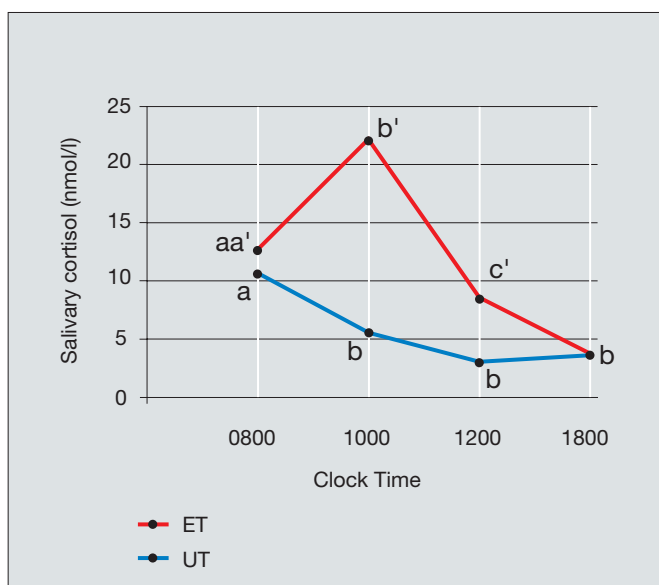


Figure 7 Concentrations de cortisol salivaire au cours de la journée expérimentale chez les sujets entraînés en endurance (ET) (exercice de course à 65% $\dot{V}O_2$ max de 8h à 10h puis repos assis au laboratoire de 10h à 18h) et les sujets sédentaires (UT) (repos assis au laboratoire de 8h à 18h).

Les points qui ne sont pas suivis de la même lettre sont significativement différents entre eux. (D'après (39)).

Le rôle exact de ces variations de la sensibilité aux glucocorticoïdes reste à mieux comprendre. Elles pourraient protéger des effets cataboliques d'une sécrétion prolongée et répétée en glucocorticoïdes. De plus, l'augmentation de la sensibilité aux glucocorticoïdes mise en évidence après l'exercice révèle la nécessité d'une cortisolémie augmentée pendant l'exercice et probablement en phase de récupération immédiate de l'exercice pour le maintien de l'homéostasie (par exemple pour ses effets anti-inflammatoires par rapport aux dommages tissulaires musculaires induits par l'exercice).

Plusieurs mécanismes peuvent expliquer ces variations de sensibilité tissulaire aux glucocorticoïdes. En amont de possibles modifications transitoires du nombre de récepteurs aux glucocorticoïdes (GR et MR), la biodisponibilité intra-cellulaire du cortisol peut aussi être modifiée. Celle-ci dépend d'une enzyme intracellulaire : la 11 β -hydroxystéroïde deshydrogénase (11 β -HSD). La 11 β -HSD catalyse l'interconversion du cortisol en cortisone. Or la cortisone présente une faible affinité pour les récepteurs aux glucocorticoïdes, ainsi qu'un pouvoir de transactivation quasiment nul. Ainsi l'oxydation du cortisol en cortisone induit l'inactivation des glucocorticoïdes alors qu'à l'inverse la réduction de la cortisone en cortisol induit leur activation. A l'heure actuelle on distingue deux isoformes de cette enzyme, la 11 β -HSD type 1 (11 β -HSD1) et la 11 β -HSD type 2 (11 β -HSD2). La biodisponibilité intra-cellulaire du cortisol dépend de l'activité des deux isoformes de la 11 β -HSD. Chez l'Homme, la technique la plus accessible pour déterminer l'activité de ces enzymes est la mesure du ratio cortisol/cortisone urinaire. Cette technique simple ne permet pas de dissocier l'activité de chaque isoforme de l'enzyme 11 β -HSD mais elle donne un indice fiable de l'activité systémique et rénale de l'organisme (45). Atlaoui *et al.* (46) puis Gouarne *et al.*

(40) ont mesuré ce ratio respectivement dans les urines des 24h chez des nageurs de haut niveau et dans les urines nocturnes de triathlètes et de footballeurs. Les résultats montrent de manière significative que chez des sujets sportifs soumis à des charges d'entraînement élevées, toute augmentation de la production de cortisol (liée à l'exercice) s'accompagne d'une augmentation parallèle de son inactivation en cortisone, de telle sorte que si l'excrétion urinaire de cortisol augmente avec les charges d'entraînement, le ratio cortisol/cortisone reste quant à lui constant. Ces résultats soulignent la diversité des mécanismes mis en place par le sujet entraîné en endurance pour s'adapter aux conséquences des exercices répétés.

Conclusion

La mesure du cortisol plasmatique, principal marqueur utilisé pour l'évaluation de l'activité et de la réactivité de l'axe corticotrope, n'est pas toujours suffisante pour explorer les adaptations liées à l'entraînement chez le sportif. La sensibilité tissulaire aux glucocorticoïdes, la fraction libre du cortisol et l'activité enzymatique de la 11 β -HSD sont des paramètres très peu étudiés chez le sportif et pourtant importants à prendre en compte pour une exploration fine de l'axe corticotrope. Dans tous les cas, et à l'encontre de certaines idées reçues, le sujet entraîné en endurance n'est pas en hypercorticisme permanent mais représente au contraire un formidable modèle d'adaptation à des périodes d'hypercortisolisme transitoire. A l'inverse, un hypercortisolisme permanent (avec abolition du cycle nyctéméral du cortisol) est dans tous les cas pathologique, même chez le sujet entraîné en endurance.

Conclusion générale

L'adaptation à des exercices répétés (entraînement) représente un challenge pour l'organisme. Les hormones jouent un rôle majeur dans ces processus adaptatifs. L'entraînement représente aussi un challenge pour les chercheurs, médecins et biologistes, qui ont encore beaucoup à apprendre de ce modèle d'adaptation réussie à des stimulations répétées.

Bibliographie

- (1) Felsing NE, Brasel JA, Cooper DM. Effect of low and high intensity exercise on circulating growth hormone in men. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1992; 75(1):157-162.
- (2) Thompson DL, Weltman JY, Rogol AD, Metzger DL, Veldhuis JD, Weltman A. Cholinergic and opioid involvement in release of growth hormone during exercise and recovery. *Journal of Applied Physiology* 1993; 75:870-878.
- (3) Maas HCM, De Vries WR, Maitimu I, Bol E, Bowers CY, Koppeschaar HPF. Growth hormone responses during strenuous exercise: the role of GH-releasing hormone and GH-releasing peptide-2. *Medicine and Sciences in Sports and Exercise* 2000; 32:1226-1232.
- (4) Pritzlaff CJ, Wideman L, Blumer J, Jensen M, Abbott RD, Gaesser GA *et al.* Catecholamine release, growth hormone secretion, and energy expenditure during exercise vs. recovery in men. *Journal of Applied Physiology* 2000; 89:937-946.
- (5) Cappon JP, Ipp E, Brasel JA, Cooper DM. Acute effects of high fat and high glucose meals on the growth hormone response to exercise. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1993; 76(6):1418-1422.
- (6) Luger A, Deuster PA, Kyle SB, Gallucci WT, Montgomery LC, Gold PW *et al.* Acute hypothalamic-pituitary-adrenal responses to the stress of treadmill exercise. *New England Journal of Medicine* 1987; 316:1309-1315.
- (7) Nevill ME, Holmyard DJ, Holl GM, Allsop P, Van Oosterhout A, Burrin JM *et al.* Growth hormone responses to treadmill sprinting in sprint- and endurance-trained athletes. *European Journal of Applied Physiology* 1996; 72:460-467.
- (8) Mc Murray RG, Eubank TK, Hackney AC. Nocturnal hormones responses to resistance exercise. *European Journal of Applied Physiology* 1995; 72:121-126.
- (9) Cappon J, Brasel JA, Mohan S, Cooper DM. Effect of brief exercise on circulating insulin-like growth factor. *Journal of Applied Physiology* 1994; 76(6):2490-2496.
- (10) Schwarz AJ, Brasel JA, Hintz RL, Mohan S, Cooper DM. Acute effect of brief low- and high-intensity exercise on circulating insulin-like growth factor (IGF) I,II, and IGF-binding protein-3 and its proteolysis in young healthy men. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1996; 81:3492-3497.
- (11) Eliakim A, Oh Y, Cooper DM. Effect of single wrist exercise on fibroblast growth factor-2, insulin-like growth factor, and growth hormone. *American Journal of Physiology* 2000; 279:R548-R553.

- (12) Dall R, Lange KHW, Kjaer M, Jorgensen JOL, Christiansen JS, Orskov H *et al.* No evidence of insulin-like growth factor-binding protein 3 proteolysis during a maximal exercise test in elite athletes. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2001; 86:669-674.
- (13) Poehlman ET, Copeland KC. Influence of physical activity on insulin-like growth factor-I in healthy younger and older men. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1990; 1468-1473.
- (14) Jahreis G, Kauf E, Frohner G, Schmidt HE. Influence of intensive exercise on insulin-like growth factor I, thyroid and steroid hormones in female gymnasts. *Growth Regulation* 1991; 1: 95-99.
- (15) Kuoppasalmi K. Plasma testosterone and sex-hormone-binding globulin capacity in physical exercise. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* 1980; 40(5):411-418.
- (16) Sutton JR, Coleman MJ, Casey J, Lazarus L. Androgen responses during physical exercise. *British Medical Journal* 1973; 1(5852):520-522.
- (17) Vasankari TJ, Kujala UM, Taimela S, Huhtaniemi IT. Pituitary-gonadal response to gonadotropin-releasing hormone stimulation is enhanced in men after strenuous physical exercise. *Acta Endocrinologica (Copenh)* 1993; 129(1):9-14.
- (18) Kujala UM, Alen M, Huhtaniemi IT. Gonadotrophin-releasing hormone and human chorionic gonadotrophin tests reveal that both hypothalamic and testicular endocrine functions are suppressed during acute prolonged physical exercise. *Clinical Endocrinology* 1990; 33(2):219-225.
- (19) Bambino TH, Hsueh AJ. Direct inhibitory effect of glucocorticoids upon testicular luteinizing hormone receptor and steroidogenesis *in vivo* and *in vitro*. *Endocrinology* 1981; 108: 2142-2148.
- (20) Guezennec CY, Ferre P, Serrurier B, Merino D, Pesquies PC. Effects of physical exercise and fasting upon plasma testosterone levels in rats. *European Journal of Physiology* 1982; 49: 159-168.
- (21) Duclos M, Corcuff J-B, Rashedi M, Fougere V, Manier G. Does functional alterations of the gonadotropic axis occur in endurance trained athletes during and after exercise? *European Journal of Applied Physiology* 1996; 73:343-350.
- (22) Ayers JWT, Komesu V, Romani T, Ansbascher R. Anthropomorphic, hormonal, and psychologic correlates of semen quality in endurance-trained males athletes. *Fertility and Sterility* 1985; 43:917-921.
- (23) De Souza MJ, Arce JC, Pescatello LS, Scherzer HS, Luciano AA. Gonadal hormones and

semen quality in male runners. A volume threshold effect of endurance training. *International Journal of Sports Medicine* 1994; 15(7):383-391.

(24) Donahue RP, Abott RD, Bloom E, Reed DM, Yano K. Central obesity and coronary heart disease in men. *Lancet* 1987; 1:821-824.

(25) Volek JS, Kraemer WJ, Bush JA, Incledon T, Boetes M. Testosterone and cortisol in relationship to dietary nutrients and resistance exercise. *Journal of Applied Physiology* 1997; 49-54.

(26) Sebokova E, Garg ML, Wierzbicki A, Thomson AB, Clandinin MT. Alteration of the lipid composition of rat testicular plasma membranes by dietary (n-3) fatty acids changes the responsiveness of Leydig cells and testosterone synthesis. *Journal of Nutrition* 1990; 120(6):610-618.

(27) Anderson KE, Rosner W, Khan MS, New MI, Pang S, Wissel PS *et al.* Diet-hormone interactions: protein/carbohydrate ratio alters reciprocally the plasma levels of testosterone and cortisol and their respective binding globulins levels in man. *Life Sciences* 1987; 40: 1761-1768.

(28) Warren MP. Health issues for women athletes: exercise-induced amenorrhea. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1999; 84(6):1892-1896.

(29) De Souza MJ, Miller BE, Loucks AB, Luciano AA, Pescatello LS, Campbell CG *et al.* High frequency of luteal phase deficiency and anovulation in recreational women runners: blunted elevation in follicle-stimulating hormone observed during luteal-follicular transition. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1998; 83(12):4220-4232.

(30) Hilton LK, Loucks AB. Low energy availability, not exercise stress, suppresses the diurnal rhythm of leptin in healthy young women. *American Journal of Physiology* 2000; 278:E43-E49.

(31) Laughlin GA, Yen SS. Hypoleptinemia in women athletes: absence of diurnal rhythm with amenorrhea. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1997; 82:318-321.

(32) Wittert GA, Stewart DE, Graves MP, Ellis MJ, Evans MJ, Wells JE *et al.* Plasma corticotrophin releasing factor and vasopressin responses to exercise in normal man. *Clinical Endocrinology* 1991; 35:311-317.

(33) Cashmore GC, Davies CTM, Few JD. Relationship between increases in plasma cortisol concentration and rate of cortisol secretion during exercise in man. *Journal of Endocrinology* 1977; 72:109-110.

(34) Winder WW, Hickson RC, Hagberg JM, Ehsani AA, McLane JA. Training-induced changes in hormonal and metabolic responses to submaximal exercise. *Journal of Applied Physiology* 1979; 46(4):766-771.

(35) Duclos M, Corcuff J-B, Rashedi M, Fougere V, Manier G. Trained versus untrained men: different immediate post-exercise responses of pituitary-adrenal axis. *European Journal of Applied Physiology* 1997; 75:343-350.

- (36) Duclos M, Minkhar M, Sarrieau A, Bonnemaïson D, Manier G, Mormede P. Reversibility of endurance training-induced changes on glucocorticoid sensitivity of monocytes by an acute exercise. *Clinical Endocrinology* 1999; 51:749-756.
- (37) Kern W, Perras B, Wodick R, Fehm HL, Born J. Hormonal secretion during nighttime sleep indicating stress of daytime exercise. *Journal of Applied Physiology* 1995; 79:1461-1468.
- (38) Duclos M, Corcuff J-B, Arsac L, Moreau-Gaudry F, Rashedi M, Roger P *et al.* Corticotroph axis sensitivity after exercise in endurance-trained athletes. *Clinical Endocrinology* 1998; 48:493-501.
- (39) Duclos M, Gouarne C, Bonnemaïson D. Acute and chronic effects of exercise on tissue sensitivity to glucocorticoids. *Journal of Applied Physiology* 2003; 94:869-875.
- (40) Gouarne C, Groussard C, Gratas-Delamarche A, Delamarche P, Duclos M. Longitudinal evaluation of two new markers of hypothalamo-pituitary-adrenal axis activation during training and overtraining (Soumis).
- (41) Neary JP, Wheeler GD, Maclean I, Cumming DC, Quinney HA. Urinary free cortisol as an indicator of exercise training stress. *Clinical Journal of Sport Medicine* 1994; 4: 160-165.
- (42) Duclos M, Corcuff JB, Pehourcq F, Tabarin A. Decreased pituitary sensitivity to glucocorticoids in endurance trained men. *European Journal of Endocrinology* 2001; 144: 363-368, 2001.
- (43) DeRijk R, Petrides J, Deuster P, Gold PW, Sternberg EM. Changes in corticosteroid sensitivity of peripheral blood lymphocytes after strenuous exercise in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1996; 81:228-235.
- (44) Duclos M. Effects of physical training on endocrine functions. *Annales d'Endocrinologie* 2001; 62:19-32.
- (45) Gelding SV, Taylor NF, Wood PJ, Noonan K, Weaver JU, Wood DF *et al.* The effects of growth hormone replacement therapy on cortisol-cortisone interconversion in hypopituitary adults: evidence for growth hormone modulation of extrarenal 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase activity. *Clinical Endocrinology* 1998; 48:153-162.
- (46) Atlaoui D, Duclos M, Gouarne C, Lacoste L, Barale F, Chatard JC. The 24-h urinary cortisol/cortisone ratio for monitoring training in elite swimmers. *Medicine & Science in Sports and Exercise* 2004 ; 36:218-224. 2004.

**Le suivi des sportifs
de haut niveau :
Exemple de la Fédération
Française de Cyclisme
(M. Guinot)**

CHAPITRE III

Introduction

Alors que la pratique régulière et modérée de l'activité physique (ou sportive) est considérée comme un facteur de protection de la santé (voir chapitre I), les effets bénéfiques sur l'organisme de la pratique intensive du sport - notamment celle du sport de haut niveau - sont actuellement très débattus (1). En effet, si de nombreuses publications ont démontré que les adaptations cardiovasculaires, musculaires et métaboliques issues de la pratique régulière et modérée de l'activité physique contribuaient à réduire l'incidence de l'apparition de certaines complications (par exemple diminution du syndrome métabolique chez les sédentaires, amélioration du profil glycémique au cours du diabète non-insulino-dépendant) ou pour améliorer la qualité de vie de certaines maladies chroniques (par exemple broncho-pneumopathie obstructive chronique), les pratiques à risques associées à la pratique du sport de haut niveau - essentiellement dénoncées par les médias en matière de dopage - remettent en question, pour cette catégorie de pratiquants, le dogme "sport = santé".

Ces constatations ont conduit le législateur à considérer le sportif de haut niveau (SHN) comme une catégorie de pratiquants nécessitant une surveillance médicale particulière dont le contenu a été récemment défini réglementairement. Il s'appuie sur une série d'examen cliniques et paracliniques destinés pour partie, à dépister les effets sur l'organisme de certaines conduites à risque.

Nous proposons d'examiner dans les paragraphes suivants comment le recours à titre systématique à des examens biologiques peut aider à réaliser ces objectifs.

Problématique du sport de haut niveau

Aspects généraux du sport de haut niveau

Les dispositions législatives françaises¹ fixant le cadre du "service public du sport", sont effectuées pour partie par le mouvement sportif, *via* les fédérations sportives qui bénéficient de l'agrément de l'Etat. Les fédérations qui ont en plus reçu une délégation des pouvoirs de l'Etat, exécutent cette mission de service public. Actuellement, environ 14 millions de français sont licenciés au sein de ces structures associatives qui organisent les compétitions sportives, définissent les règles techniques et administratives propres à leur discipline et fixent librement les règles relatives à l'organisation de leurs compétitions, à l'exception des domaines relevant de l'ordre public (2). Ces domaines qui concernent la violence, le dopage, le pouvoir disciplinaire, le règlement médical, font l'objet de dispositions législatives et réglementaires.

Le sport de haut niveau français est représenté dans 55 fédérations sportives (29 fédérations unisport olympiques, 25 fédérations unisport non olympiques, 1 fédération multisports olympique) qui sont responsables de 156 disciplines de haut niveau (2). Il concerne environ 17 000 sportifs - soit 0,12 % de l'ensemble des licenciés - dont les listes sont arrêtées chaque année par le Ministre de la Jeunesse, des Sports et de la Vie Associative sur proposition de la Commission Nationale du Sport de Haut Niveau². Ces listes nominatives qui représentent, d'une part 6000 SHN - répartis en catégories seniors (dont environ 1000 élites), jeunes et athlètes en reconversion – et, d'autre part 11 000 sportifs répartis dans les filières d'accès au sport de haut niveau³, concernent essentiellement des adolescents (âgés de plus de 12 ans) et des adultes jeunes. La qualité de sportif de haut niveau ne repose pas sur des critères de pratique intensive du sport mais surtout sur des critères "d'excellence sportive", nécessitant la reconnaissance du caractère de haut niveau de la discipline sportive concernée par la CNSHN et la participation des sportifs à des compétitions de référence (championnat d'Europe, du Monde, Jeux Olympiques).

1 Loi n° 84-610 du 16 juillet 1984 modifiée relative à l'organisation et à la promotion des activités physiques et sportives.

2 Décret n°2002-707 du 29 avril 2002 relatif au sport de haut niveau.

3 Décret n° 2002-1010 du 18 juillet 2002 relatif aux filières d'accès au sport de haut niveau.

Cette "définition" exclut, bien qu'ils soient exposés aux mêmes risques (1), la plupart des individus qui pratiquent également le sport de manière intensive⁴, à savoir les sportifs professionnels (excepté ceux qui obtiennent des sélections dans les équipes nationales), les individus dont la profession exige une activité physique intense (moniteurs de sport, pompiers, certains militaires, métiers de sécurité...) et l'ensemble des sportifs licenciés (ou non-licenciés) qui ne satisfont pas aux critères de performance de haut niveau.

Les contraintes du sport de haut niveau :

L'obligation de performance qui est l'essence même du sport de haut niveau, provoque deux grands types de contraintes (physique et psychologique) auxquelles les sportifs vont devoir s'adapter, même si elles concernent, a priori des individus ayant des prédispositions athlétiques, morphologiques ou psychologiques.

Sur le plan physique, ces contraintes sont hétérogènes et sont spécifiques de la discipline sportive concernée. En effet, elles vont également entraîner des sollicitations et nécessiter des adaptations cardiorespiratoires, musculaires, squelettiques, hormonales et métaboliques différentes. D'un point de vue bioénergétique et cardiorespiratoire, ces différences sont bien individualisées par la mesure de la consommation maximale d'oxygène ($\dot{V}O_2 \text{ max}$) des SHN (3). Cela permet d'estimer l'importance des contraintes métaboliques et cardiorespiratoires auxquelles sont soumis ces sportifs lors des entraînements et des compétitions :

- Les disciplines dites d'endurance nécessitent une $\dot{V}O_2 \text{ max}$ élevée (≥ 70 ml/kg/mn chez le sportif masculin). L'utilisation de la filière aérobie pendant l'effort est quasi exclusive et entraîne une dépense énergétique importante en raison des efforts intenses et prolongés (demi-fond long, course hors stade, cyclisme sur route, ski de fond...).
- Les disciplines dites de résistance où prédomine l'utilisation des filières anaérobies (environ 50 ml/kg/mn chez le sportif masculin). Elles concernent les sportifs chez lesquels prédominent des qualités de force, de vitesse ou de détente. Ces disciplines entraînent une dépense énergétique modérée et nécessitent le développement de la masse musculaire et l'apprentissage du geste.
- Les disciplines mixtes concernent des sportifs qui ont une $\dot{V}O_2 \text{ max}$ intermédiaire (55 à 65 ml/kg/mn). Ce sont des sports collectifs ou individuels, exigeant des efforts continus ou intermittents qui utilisent les filières aérobie et anaérobie.

4 On peut retenir comme critère de pratique intensive du sport (même s'il est discutable pour certaines disciplines sportives), une durée hebdomadaire supérieure à 8 heures (M Choquet et al.).

- A part, les disciplines d'adresse ou de précision qui sollicitent peu l'organisme sur le plan énergétique.

Si les contraintes physiques appliquées aux sportifs de haut niveau sont éminemment variables, les contraintes psychologiques apparaissent plus homogènes. En effet, non seulement l'obligation de résultat - que le sportif s'impose et qui est relayée par l'entourage (entraîneurs, dirigeants, sponsors, famille ...) mais également la succession des compétitions et des entraînements génèrent un stress important, d'autant plus qu'il interfère avec les contraintes de la vie extra-sportive (4).

Il paraît implicite que l'association de ces contraintes augmente la "charge allostatique" (5) qui, chez certains sportifs, vont générer des troubles adaptatifs et menacer la santé physique et psychique.

La santé et le sport de haut niveau

Les effets délétères de la pratique intensive du sport

Bien que les relations dose /réponse induite par l'activité physique ne soient pas clairement établies, la plupart des modèles ou des publications décrivent que les risques associés à la pratique intensive du sport évoluent selon une courbe en "J" (1, 6). Il en résulte que le ratio bénéfice/risque sur la santé va diminuer avec l'intensité de la pratique sportive (7). Les sollicitations intenses et répétées de l'organisme, d'autant qu'elles sont associées avec des temps de récupération réduits, vont augmenter les risques (i) de traumatismes- dont le siège et la gravité dépendent de la discipline pratiquée -, (ii) d'infections notamment des voies aériennes supérieures (6), (iii) d'asthme particulièrement dans les disciplines d'endurance (8), (iv) de perturbation de la fonction gonadotrope chez la femme (9) mais également chez l'homme (10), (v) de mort subite chez les sportifs ayant une cardiopathie congénitale sous-jacente méconnue (11), (vi) de retard de croissance chez l'enfant (12, 13) dont l'impact final reste très débattu (vii) de surentraînement (14).

Certaines de ces complications pourront être favorisées ou provoquées par l'utilisation concomitante de médicaments qu'ils soient ou non médicalement prescrits (Cf. infra § sur le dopage) et les troubles du comportement alimentaires (TCA, Cf. § infra).

Les effets à long terme de la pratique intensive du sport ont été peu étudiés. En dehors des séquelles ostéo-articulaires ou neurologiques qui peuvent altérer la qualité de vie, il semble difficile d'établir une relation de causalité entre la pratique intensive du sport et

l'état de santé 20 ou 30 ans après l'arrêt de la carrière sportive, tant celui-ci va dépendre de l'hygiène de vie que l'individu va adopter (15). Une augmentation de l'espérance de vie par rapport à celle de la population générale a été mise en évidence au sein de 2 cohortes de sportifs de haut niveau finlandaises (16, 17). Cette augmentation était supérieure chez les anciens sportifs de haut niveau, surtout chez ceux qui avaient pratiqué une discipline d'endurance (17). Cet accroissement de la longévité était attribué à leur meilleure hygiène de vie (activité physique supérieure et tabagisme moindre) responsable de la diminution de l'incidence des décès par cancer (du poumon) et accident cardiovasculaire et vraisemblablement de prédispositions génétiques responsables d'une capacité oxydative et d'une meilleure sensibilité à l'insuline (18, 19).

Au contraire, certains auteurs (20) ont constaté une augmentation des décès (d'origine coronarienne et par suicide) d'un facteur 4,6 chez 62 haltérophiles élités ayant vraisemblablement utilisé des stéroïdes anabolisants. Certaines publications scientifiques (ainsi que les rubriques nécrologiques de la presse sportive) suggèrent également qu'il existe des liens étroits entre le dopage et le risque de décès prématuré de certains athlètes, non seulement par accidents cardiovasculaires ou par cancer, mais également par mort violente, particulièrement chez les utilisateurs de stéroïdes anabolisants (20, 21)

En résumé, si la pratique intensive du sport semble augmenter le risque d'altération de la santé à court terme d'autant plus qu'elle serait associée à d'autres pratiques à risque, il est difficile d'attribuer les effets d'une pratique transitoire (quelques années) sur la santé ultérieure. Il existe vraisemblablement, en raison des conduites à risque associées (dopage, consommation de substances psycho-actives, troubles des conduites alimentaires), une fraction de SHN avec un risque de co-morbidité élevé. Cependant, les connaissances actuelles ne permettent pas d'affirmer qu'il est supérieur à celui de la population générale.

Sport de haut niveau et pratiques à risques

La pratique du sport de haut niveau - analysée selon l'angle de la recherche absolue de la performance, véritable "quête du dépassement de soi"- va inciter l'individu à la démesure, parfois au détriment de sa santé (22). Pour dépasser les limites qu'ils se sont fixées, certains sportifs vont en effet continuer de solliciter leur organisme malgré l'apparition de blessures (musculaire, tendineuses ou fractures de fatigue), d'infections, de fatigue extrême allant jusqu'à l'épuisement (4), recourir à l'utilisation de produits dopants ou mettre en place des stratégies de restriction alimentaire. Par analogie à certains critères psychopathologiques (23), il semble donc exister un lien entre la pratique sportive intensive, la

dépendance à l'activité sportive et les autres conduites à risque qui sont caractéristiques de l'adolescence et de l'adulte jeune (24). Ainsi, Choquet et al (1) ont mis en évidence que l'incidence de certaines conduites à risques (consommation de substances psycho-actives, violence...) augmentait avec la durée de la pratique sportive hebdomadaire. Lowenstein et al (25) ont également constaté une fréquence de 10,8% d'anciens sportifs de haut niveau consultant des centres de substitution pour toxicomanes, dont certains avaient eu recours au dopage pendant leur carrière.

Il nous a semblé intéressant de développer particulièrement les aspects des TCA et du dopage chez le sportif car ces pratiques sont des facteurs importants de variabilité biologique.

Les risques spécifiques du sport de haut niveau

Troubles du comportement alimentaire et pratique sportive intensive

Incidence et caractéristiques cliniques : Les principales formes cliniques des TCA sont l'anorexie mentale, la boulimie, et des formes mixtes (23) dont le pronostic vital et psychiatrique est sévère. Elles concernent 1 à 2 % de la population générale, essentiellement les adolescents et les adultes jeunes puisque c'est à cet âge que ces troubles s'installent avec une sur-représentation féminine (23). L'hyperactivité physique, quasi-constante chez ces sujets (26), s'inscrit dans une stratégie cognitive de maîtrise du poids. Cette analogie avec l'activité physique des SHN se trouve renforcée par le fait que les TCA sont plus fréquents chez les SHN (27, 28). En effet, environ 20% des SHN féminines et 10% des SHN masculins présentent des TCA. Ces troubles, plutôt restrictifs, sont spécifiques des disciplines où la minceur et/ou la légèreté sont exigés (27-29). En effet, les sportifs pratiquant des disciplines à juger esthétique (danse, gymnastique, patinage artistique...), à limite de poids imposée (judo, lutte, boxe...), d'endurance sont particulièrement exposés. Bien que le terme d'"anorexia athletica" soit employé par certains auteurs (28), la plupart des troubles présentés par les SHN sont infra-cliniques et la fréquence des cas avérés d'anorexies ou de boulimies ne semble pas supérieure à celle de la population générale (27, 28).

Conséquences biologiques

L'association d'une dépense énergétique élevée à une restriction calorique est une source majeure de déficit calorique (30) et un facteur de risque de surentraînement (14). Ce syndrome associe une diminution des performances, des troubles de l'humeur et comportementaux et des perturbations neuro-endocriniennes des axes gonadotrope, somatotrope et corticotrope (14, 31) qui seront abordées plus tard.

Ce déficit calorique semble jouer un rôle déterminant dans l'apparition de perturbations du système endocrinien (30, 32) dont la présentation la plus connue est la "triade de l'athlète féminine" qui associe aménorrhée, TCA et ostéopénie (33). Ce dysfonctionnement de l'axe gonadotrope a été également mis en évidence chez le sportif masculin (10).

Comme les patientes ayant une anorexie mentale (34), les sportives en restriction calorique ont des modifications hormonales (30, 35) qui consistent non seulement en une diminution des concentrations plasmatiques de LH et FSH et d'œstradiol pouvant se traduire cliniquement par un aménorrhée, mais également en une augmentation de la sécrétion basale de GH et de cortisol, une diminution de la concentration plasmatique d'IGF1, de leptine et une augmentation de celle d'IGFBP1. Elles ont également des modifications des marqueurs sériques du remodelage osseux (34). Loucks *et al.* (30) ont montré que ces modifications hormonales étaient proportionnelles au déficit calorique, indépendamment de l'effort musculaire.

Ainsi, selon l'âge de début de l'entraînement intensif, la pratique du sport de haut niveau, si elle est associée à un déficit énergétique pourra entraîner un retard pubertaire, voire de l'adrénarchie, pour les enfants sollicités très précocement, avec une diminution du pic de masse osseuse (33). Chez l'adulte, une ostéopénie prédominant sur les sites non porteurs est également constatée (36, 37). Les troubles de la croissance pourront être réversibles à l'arrêt de la carrière sportive avec la reprise pondérale. En revanche, le pronostic du déficit d'acquisition du pic de masse osseuse et de l'ostéopénie de l'adulte semble plus réservé, avec augmentation de l'apparition précoce d'une ostéoporose.

Le dopage

Définition, réglementation et aspects médico-légaux

Il n'existe pas de définition universellement admise du dopage. Sur un plan légal, "il est interdit, en vue de participer à des compétitions, d'utiliser des substances ou des procédés thérapeutiques destinés à modifier artificiellement les capacités physiques ou à masquer l'emploi de substances ayant ces propriétés"⁵.

Cette définition juridique réduit le dopage à une population particulière – les sportifs compétiteurs qu'ils soient ou non licenciés – et à une liste de substances et de méthodes interdites définie par arrêté⁶. Cette liste est élaborée et proposée par l'Agence mondiale antidopage⁷, adoptée par le Comité international olympique et par la plupart des fédérations sportives internationales, avant d'être publiée en France.

Cette réglementation prévoit également d'autoriser l'utilisation de certaines substances interdites en compétition après accord d'une "autorité compétente". En pratique, cela concerne majoritairement les glucocorticoïdes locaux et les beta-2 mimétiques inhalés, mais des demandes peuvent théoriquement être établies pour l'ensemble des substances interdites. S'il est improbable que des autorisations soient accordées pour des substances comme l'érythropoïétine, en revanche, d'autres - comme certains traitements substitutifs hormonaux (insuline, stéroïdes anabolisants, glucocorticoïdes) - pourront être accordées. Cela soulève des problèmes délicats qui nécessitent d'évaluer la justification de ces demandes et de contrôler le respect des posologies, mais aussi d'éthique et de responsabilité médicales. En effet, doit-on autoriser des sportifs à participer à des compétitions de haut niveau dont on sait (au moins pour certaines disciplines) qu'elles représentent un risque vital accru pour le sportif ou pour la sécurité des autres participants ?

Epidémiologie et mode de pratiques

Bien que le sportif convaincu de dopage soit uniquement exposé à des sanctions disciplinaires, celui-ci reste une pratique "clandestine", ce qui rend difficile l'appréciation de sa prévalence en particulier chez les SHN, et d'en connaître avec précision les pratiques.

Quatre grandes sources permettent de l'appréhender, celles provenant des études transversales effectuées dans des populations d'adolescents et adultes jeunes, des contrôles

5 Article L 3631-1 du code de Santé publique.

6 Arrêté du 20 avril 2004 relatif aux substances et aux procédés mentionnés à l'article L. 3631-1 du code de la santé publique.

7 L'agence mondiale antidopage a été créée en 1999 conjointement par les gouvernements et le mouvement sportif international dans le but d'harmoniser et d'améliorer la lutte antidopage.

antidopage, des saisies douanières ou policières qui ont été relayées dans les médias et des cas ponctuels représentés par les sportifs "repentis" ou des publications médicales reliant le dopage à un état morbide.

• **Les données issues des enquêtes de prévalence** (voir revue in (38)) révèlent qu'entre 3 et 5% des adolescents et 5 à 15% des adultes jeunes auraient recours à l'usage de produits dopants. La plupart de ces études concernent la population générale et se sont intéressées à la consommation de stéroïdes anabolisants. Il existe une sur-représentation masculine avec un sexe ratio d'environ 3/1. L'âge moyen de la première prise est de 14 ans.

Une relation positive entre le niveau de pratique sportive et le dopage, a été mise en évidence au sein d'une population d'adolescents de la région Midi Pyrénées (39). 1,8% des adolescents non-compétiteurs contre 7.7% des sportifs ayant pratiqué au niveau national ont déclaré avoir utilisé des substances interdites. Ces données ont été confirmées par les enquêtes nationales (40).

Dans une population de 2000 sportifs amateurs, Laure *et al.* (41) ont trouvé que 9.5% de sportifs avaient utilisés des produits dopants (essentiellement stimulants, stupéfiants, glucocorticoïdes). Ils utilisaient ces produits en association (poly-consommation), dont 60% avaient bénéficié d'une prescription médicale. Quelques éléments semblent donc se dégager de ces études : (i) le cadre du dopage déborde largement le cadre de la pratique sportive (ii) il existe une association positive entre le niveau de compétition et la fréquence d'utilisation des produits dopants (iii) le dopage s'inscrit dans le cadre d'une poly-consommation de produits dont certains effets – qu'ils soient volontairement recherchés ou non – sont psycho-actifs. L'utilisation de ce type de produits peut expliquer, pour partie, les relations entre dopage, pharmaco-dépendance et toxicomanie constatées chez certains sportifs (Cf. supra). (iv) Dans le cadre du sport amateur, la plupart des produits sont prescrits, soulignant le rôle des médecins - même si cette aide pharmacologique est probablement le plus souvent involontaire - dans la diffusion du dopage de masse. En France, cela n'est probablement pas le cas pour les produits dopants, tels que l'érythropoïétine ou l'hormone de croissance recombinantes, pour lesquels la prescription est très réglementée.

- **Données issues des contrôles antidopage :** En France, chaque année, 7000 à 8000 échantillons d'urine, sont analysés par le Laboratoire National de Dépistage du Dopage (Cf. [Tableau I](#)).

Tableau I : Evolution des contrôles antidopage réalisés en France (In rapport d'activité du Conseil de Prévention et de Lutte contre le Dopage (42))

	1999	2000	2001	2002	2003
Nombre de contrôles antidopage	7726	7966	7235	7262	8105
Rapports d'analyse positifs (en %) ⁸	3,60%	4,02%	5,23%	6,80%	6,30%

On constate une augmentation du nombre de rapports positifs qui est attribué principalement à l'augmentation du nombre de contrôles hors compétition, mais également à la recherche des glucocorticoïdes (Cf. [Tableau II](#)) qui a débutée en 2000 dans le Cyclisme avant d'être généralisée à l'ensemble des fédérations sportives en 2002. Il faut noter qu'environ 40% des échantillons urinaires proviennent des sportifs pratiquant le Cyclisme, l'Athlétisme, le Football ou le Rugby.

Tableau II : Evolution et répartition (en %) des principales substances mises en évidence dans les contrôles antidopage (43)

	2000	2001	2002
Cannabis	25	25	21
Salbutamol	22	21	12
Glucocorticoïdes	16	17	42
Stimulants	16	19	8
Stéroïdes anabolisants	10	9	5

⁸ La notion de "rapport d'analyse positif" signifie la présence de substances dopantes interdites ou soumises à restriction (avec ou sans justification thérapeutique) mais exclut toute substance à seuil dont le taux ne permet pas de déclencher une procédure disciplinaire. Un contrôle antidopage est également considéré comme positif dès lors que le sportif ne s'y est pas soumis. Ce cas est un "constat de carence". Ils représentent environ 2,8 % des contrôles positifs.

L'importance de la présence des glucocorticoïdes prouve sa large utilisation par le sportif qu'ils aient ou non été l'objet de prescription.

La principale lacune de ces données est qu'elles ne fournissent aucun renseignement permettant de relier la présence d'une substance dans les urines à une pratique. Par ailleurs certaines substances étant indétectables (par exemple insuline, GH, ACTH...), elles échappent à toute statistique.

• **Les sources judiciaires et les saisies douanières** : Ces dernières années, les saisies douanières, notamment dans les milieux cyclistes professionnels (Tour de France 1998, Giro 2000, affaire Rumsas 2002) ont révélé la diversité des classes pharmaceutiques susceptibles d'être utilisées par ces sportifs, parfois même avant que celles-ci soient commercialisées. Les révélations effectuées par certains coureurs lors des procès qui ont suivi ont confirmé l'importance et la fréquence des doses utilisées. On citera en exemple les 37 produits saisis dans le coffre de la voiture de l'épouse du coureur lituanien (In l'Equipe du 12 09 2002), contenant entre autres des produits hormonaux (GH, insuline, testostérone, glucocorticoïdes), des produits stimulants, des vasodilatateurs, du matériel à perfusion et des seringues usagées dont l'analyse toxicologique ultérieure révélera des traces d'érythropoïétine recombinante. Ces cas, même s'ils ne démontrent pas la généralisation de telles pratiques à l'ensemble du sport de haut niveau, suscitent plusieurs commentaires. (i) Ils mettent en évidence un décalage entre les substances habituellement détectées au cours des contrôles antidopage et celles qui sont probablement utilisées. On peut l'expliquer en partie par le fait que certaines d'entre elles (la plupart des hormones peptidiques et leurs sécrétagogues) ne sont pas détectées⁹. (ii) Certains de ses médicaments n'étant plus produits en France (la plupart des stéroïdes anabolisants) ou réservés à l'usage hospitalier, leur utilisation n'est possible que s'il existe des sources de fabrication et/ou d'approvisionnements clandestines et illégales. Les utilisateurs s'exposent alors à des sanctions pénales (iii) Compte tenu des propriétés pharmacologiques des substances, on devine que la finalité de leur usage est non seulement d'améliorer la performance, mais également la récupération ou la lutte contre les effets secondaires. (iv) Etant donné la complexité et la difficulté à manipuler certains médicaments, la diffusion de l'utilisation de ces produits n'a pu s'effectuer sans l'apport des connaissances physiologiques et pharmacologiques issues des milieux médical et scientifique.

9 L'érythropoïétine recombinante et les glucocorticoïdes sont détectés en France depuis 2000

Détection du dopage : mise en évidence directe des substances

Après un contrôle antidopage, une analyse est considérée comme positive si elle révèle la présence d'une molécule interdite dans un prélèvement biologique. Le prélèvement des urines est privilégié en raison de sa facilité de recueil et de la concentration des substances absorbées. Les techniques de dosage employées qui ont des seuils de détection très bas (chromatographie gazeuse avec spectrométrie de masse), recherchent, la plupart du temps, les métabolites urinaires des substances interdites (excepté les substances qui ne sont pas transformées par le foie ou le rein).

Pour les xénobiotiques qui ont une composition chimique identique à celle des substances naturellement excrétées dans les urines, le législateur a prévu plusieurs situations. Les échantillons urinaires seront considérées comme caractéristiques de l'absorption illicite d'un produit :

- Au delà d'une certaine concentration comme pour la nandrolone ou pour certaines substances pouvant être absorbée de manière passive (cannabis) ou par des voies autorisées (bêta 2 mimétiques inhalés)
- Lorsque le rapport de deux métabolites sera supérieur à une certaine valeur (testostérone / épitestostérone >4) pour la testostérone.

Détection du dopage : mise en évidence indirecte des substances

Pour pallier l'insuffisance des techniques pour mettre en évidence certaines substances (GH, IGF1, insuline, ACTH et leur sécrétagogues), des méthodes de détection dites "indirectes" ont été proposées. Elles sont basées sur l'analyse de paramètres sanguins dont la modification traduit, en l'absence de maladie, l'administration hautement probable d'une substance interdite. Il a été proposé l'utilisation d'un paramètre unique (dépistage de l'EPO) ou d'une combinaison de paramètre (EPO, GH).

Dépistage de l'abus d'érythropoïétine recombinante (Rh EPO)

- **Seuils de précautions :** Compte tenu de la large utilisation de l'érythropoïétine recombinante - en particulier dans les disciplines d'endurance - et avant l'utilisation d'une méthode de détection urinaire (44), certaines fédérations internationales ont mis en place des seuils de précautions basés sur des prélèvements sanguins. Au delà d'une valeur limite d'hémoglobine ou d'hématocrite, les sportifs ne peuvent participer à une compétition. Ces "no start" ont été initialisés par l'Union Cycliste Internationale en 1997, lorsque le taux d'hématocrite était supérieur à 50% chez l'homme. D'autres fédérations (fédération

Internationale de Ski, International Biathlon Union...) utilisent le taux d'hémoglobine - généralement supérieur à 180 g/l pour tenir compte des effets de l'altitude. Ces limites artificielles ont souvent été critiquées, soit parce qu'elles ne correspondent pas à des valeurs pathologiques (Hématocrite > 50%), soit parce que certains sportifs peuvent avoir des valeurs élevées en l'absence de manipulations pharmacologiques.

• **Combinaison de paramètres :** Pour améliorer la sensibilité des méthodes de détection indirecte et pour élargir la période pendant laquelle il est possible de détecter une prise de Rh EPO, certains auteurs (45, 46) ont proposé une combinaison de paramètres qui reflète l'augmentation de l'érythropoïèse. En plus des paramètres "classiques" de l'érythropoïèse (hématocrite, hémoglobine, volume globulaire), le comptage des réticulocytes (cellules précurseurs des hématies, notamment les formes immatures), et le dosage de la concentration plasmatique des récepteurs solubles à la transferrine (sTFR) (reflet indirect de l'activité érythropoïétique en l'absence de carence martiale) ont été récemment proposés (45, 46).

Parisotto *et al.* (46) proposent ([Tableau III](#)) en effet un modèle "On" applicable pendant la prise d'EPO et un modèle "Off" applicable après la prise d'EPO basé sur la cinétique des principaux marqueurs de l'érythropoïèse :

Tableau III : Modèles On - Off

Modèles "On"	$On-he = Hb + 9.74 \times \ln(EPO)$
	$On-hes = Hb + 6.62 \times \ln(EPO) + 19.4 \times \ln(sTFR)$
Modèles "Off"	$Off-hr = Hb - 60 \times \sqrt{(Ret)}$
	$Off-hre = Hb - 50 \times \sqrt{(Ret)} - 7 \times \ln(EPO)$

Hb : concentration hémoglobine (g/l), EPO concentration plasmatique érythropoïétine (mUI/l), Ret : % réticulocytes, sTFR : concentration plasmatique des récepteurs solubles à la transferrine (mg/l).

On peut d'emblée reprocher à cette méthode son manque de spécificité, puisque le risque statistique de chevauchement avec des valeurs "normales" est très faible. Autrement dit, certains sportifs seront faussement négatifs alors qu'ils seront ou auront pris de la Rh EPO. Par ailleurs, ces valeurs ont été établies à l'aide d'un automate (pour hémoglobine et réticulocytes) et l'administration d'un type de Rh EPO. Ces nomogrammes sont donc limités dans leur application.

Enfin, d'autres produits dopants (stéroïdes anabolisants, glucocorticoïdes) peuvent entraîner une stimulation de l'érythropoïèse et modifier également ces paramètres.

Dépistage de l'abus d'hormone de croissance

Il n'existe actuellement pas de test permettant la détection d'un apport exogène de GH. Les difficultés sont liées au fait que la molécule recombinante et l'hormone naturelle ne sont pas distinguables et, d'autre part, au fait que, durant l'exercice, l'excrétion rénale de GH est considérablement augmentée limitant l'interprétation d'un taux élevé de GH urinaire après une compétition.

Deux méthodes de dépistage indirect basées sur le dosage de paramètres sanguins, sont proposées.

- La première utilise le principe que l'hypophyse sécrète majoritairement 2 isoformes de GH : la principale de 22 kDa représentant environ 90% de la GH circulante et une isoforme de 20 kDa. En cas d'apport exogène de GH, sachant que la GH recombinante est une isoforme de 22 kDa et que son administration entraîne un rétrocontrôle inhibiteur de la sécrétion hypophysaire, le rapport 20 kDa/22 kDa s'effondre. Le dosage plasmatique de la GH 20 kDa peut être obtenu directement en utilisant un anticorps monoclonal spécifique non disponible (47) ou par soustraction en utilisant un anticorps monoclonal anti-22 kDa et un anticorps polyclonal anti-(20 + 22) kDa (48). Les limites de cette technique sont liées aux effets brefs (environ 24 heures) de l'hormone recombinante sur l'organisme et à la faible quantité de GH 20 kDa circulante à l'état basal, souvent à la limite du seuil de détection. Elle perd également toute valeur si une GH recombinante comportant un mélange physiologique des 2 isoformes était disponible ou lors de l'administration concomitante de substances sécrétagogues de la GH (GHRH, GH related peptides).
- La seconde méthode de détection est basée sur les effets induits par l'administration de GH sur les IGFs et les protéines porteuses des IGFs (IGFBPs), ainsi que sur les marqueurs du remodelage des tissus osseux et conjonctifs.

Nous rappelons que la GH régule positivement les concentrations plasmatiques d'IGF1 dont la forme de circulation principale est intégrée dans un complexe ternaire de 150 kDa associant l'IGFBP3 et l'Acid-labil subunit (ALS). Elle régule négativement certaines IGFBPs, dont IGFBP1 et IGFBP2 (49). Elle augmente également la concentration plasmatique des marqueurs du remodelage osseux collagéniques (téloptides du procollagène de type I et produits issus de la dégradation du collagène I), non collagéniques (ostéocalcine) et pré-curseurs du collagène de type III (50, 51).

Cette méthode s'avère sensible car les concentrations plasmatiques de ces paramètres sont relativement stables sur un nyctémère, varient dans des proportions très faibles au cours d'un effort musculaire et restent élevés plusieurs jours après l'administration de GH (50).

Par contre, son manque de spécificité limite actuellement son application car il existe de nombreux facteurs confondants chez le sportif qui peuvent modifier ces paramètres où masquer leur augmentation (fractures, restriction calorique, utilisation de glucocorticoïdes, stéroïdes anabolisants).

Le suivi médical des sportifs de haut niveau : l'exemple de la Fédération Française de Cyclisme

La Fédération Française de Cyclisme ayant reçu de l'Etat une délégation de service public, elle a dû mettre en place un dispositif pour que l'ensemble des sportifs visés à l'article L 3631 et suivants du code de Santé Publique puissent effectuer les analyses biologiques. En plus des contraintes réglementaires, ce suivi doit être exhaustif, homogène, reproductible et comparable dans le temps, individuellement et collectivement. De plus les résultats biologiques doivent être transmis rapidement aux médecins fédéraux pour que des réactions rapides soient possibles.

Par ailleurs, le contenu des examens biologiques devait être suffisamment pertinent pour détecter le retentissement des conduites à risques que sont la restriction calorique et l'utilisation de produits dopants, ainsi que le dépistage d'une maladie intercurrente.

Mise en place de la logistique

Le dispositif devait donc s'adapter à une population cycliste qui est nomade, peu disponible et dispersée sur le territoire métropolitain et l'Outre-mer.

Il devait donc permettre :

- Une couverture géographique suffisante de manière à limiter les déplacements
- La faisabilité du contenu défini sur chaque site de prélèvement
- La comparaison - si ce n'est la similitude - des techniques de dosage
- La transmission des résultats était réalisée dans des délais courts (< 7 jours)

La solution retenue fut celle d'un groupe de laboratoires répartis sur tout le territoire et servant de points de prélèvement et de conditionnement des échantillons. Les analyses excepté l'hématologie, sont effectuées après transfert dans un laboratoire centralisé. Celui-ci transmet les résultats par courrier et par voie électronique aux destinataires. Par ailleurs, les résultats sont disponibles sur un site internet sécurisé dès que les examens sont validés par un biologiste.

Conditions pré-analytiques

Les conditions pré-analytiques conditionnent l'interprétation des résultats biologiques. Le médecin fédéral destinataire ne connaissant pas l'ensemble des sportifs individuellement, une fiche pré-analytique permet de préciser certaines caractéristiques (âge, sexe, données anthropométriques, prise(s) médicamenteuse (s), état de forme).

Par ailleurs, compte tenu des effets de l'effort musculaire sur certains paramètres hormonaux, il est demandé au sportif d'effectuer son prélèvement au moins 24 heures après celui-ci. Enfin, la sécrétion de certaines hormones – notamment le cortisol – étant sujettes à un rythme circadien, il est demandé d'effectuer les prélèvements entre 7 heures 30 et 9 heures 30 du matin.

Le **Tableau IV** ci-après résume les facteurs intra-individuels susceptibles de modifier les valeurs biologiques chez le sportif de haut niveau.

Tableau IV : Facteurs influençant les paramètres physiologiques retenus, chez le sportif de haut niveau.

	Age	Sexe	Nyctémère	Effort musculaire	Entraînement	Hormones et Peptides recombinants
Hémoglobine	++	++	=	+	+/-	EPO, SA, GC
Réticulocytes	=	=	=	+/-	+?	++
Cortisol	=	=	+++	++	+ ?	GC
Testostérone	+	+++	=	+	+/-	SA, GC
IGF-I	+++	++	=	+/-	+/-	GH, SA
Ostéocalcine	+++	++	=	=	=	GH, SA ?, GC
Ferritine	+	++	=	?	+	

+++ : Influence très importante, ++ : Influence importante, + : Influence modérée, +/- : Influence discutée, = : Pas d'influence, ? : données non trouvées dans la littérature, EPO : erythropoïétine, SA : stéroïdes anabolisants, GC : glucocorticoïdes, GH : hormone de croissance.

Choix du contenu du bilan biologique

Comme nous l'avons rappelé en introduction, le bilan biologique doit être pertinent pour dépister :

- Une infection intercurrente
- Les perturbations du bilan énergétique et les signes de mauvaise tolérance de l'entraînement
- Les effets iatrogènes et de l'utilisation de produits dopants
- Une contre-indication à la pratique intensive du sport en compétition

Par contre, l'exhaustivité des paramètres ne sera pas réalisable étant donné le coût de tels bilans.

Lors de la mise en place du suivi biologique en 1998, les experts réunis par le Ministère de la Jeunesse et des Sports et de la Santé avaient retenus les paramètres figurants au [Tableau V](#).

Tableau V : Paramètres plasmatiques initialement retenus pour le suivi biologique.

Hématologie et érythropoïèse	NFS*, réticulocytes*, récepteurs solubles à la transferrine (sTFR), Erythropoïétine
Métabolisme du fer	Ferritine*
Axe gonadotrope	LH, FSH, Testostérone*
Axe somatotrope	IGF 1*
Axe corticotrope	Cortisol*
Métabolisme osseux	Ostéocalcine*
Marqueur de l'inflammation	CRP*

* Paramètres actuellement retenus pour le suivi des cyclistes élites

Avant de présenter certains résultats, il nous faut reposer les intérêts de la réalisation d'un tel suivi. A l'échelle de la population cycliste, elle va permettre d'apprécier les variations saisonnières, la comparaison entre les disciplines, l'évolution de certains paramètres et le développement d'indicateur pertinent.

A l'échelon individuel, il va être possible d'établir un "profil biologique", d'explorer les sujets qui sortent des normes de manière à améliorer la compréhension physiopathologique, voire de procéder à des contre-indications médicales temporaires en fonction du risque représenté par l'anomalie biologique.

Enfin, il a été nécessaire de modifier les règlements fédéraux de manière à ce que des décisions médico-administratives soient prises par le médecin fédéral comme cela est réalisé en médecine du travail.

Caractéristiques de la population étudiée

Les caractéristiques de la population cycliste élite sont données dans les [Tableaux VI, VII, VIII et IX](#).

Tableau VI : Nombre de bilans effectués en 2003.

		1 ^{er} Bilan	2 ^{ème} Bilan	3 ^{ème} Bilan	4 ^{ème} Bilan	Total Bilans	%
Elite 1	Inscrits	171	175	176	175	697	
	Bilans réalisés	166	172	162	162	662	95,0%
	Bilans manquants*	2	0	9	13	24	3,4%
Elite 2	Inscrits	460	498	539		1497	
	Bilans réalisés	444	461	450		1355	90,5%
	Bilans manquants*	13	28	82		123	8,2%
SHN	Inscrits	219	219	225		663	
	Bilans réalisés	211	208	203		622	93,8%
	Bilans manquants*	6	7	18		31	4,7%

* Bilans pour lesquels aucune explication est fournie. Elites 1 : Cyclistes professionnels ; Elite 2 : Cyclistes amateurs dont 219 sportifs de haut niveau (SHN).

Tableau VII : Répartition de la population cycliste élite par discipline

Discipline	Professionnels	Amateurs		Effectif total	dont sportifs de haut niveau	
		Féminines	Masculins		Féminines	Masculins
BMX		10	21	31	6	15
Cyclo-cross		2	17	19	2	10
Cross-country		16	60	76	13	17
Descente		5	24	30	5	16
Poursuite		6	24	30	6	18
Route	173	35	282	490	19	44
Trial			3			
Vitesse	4	5	15	24	5	17
Effectif total	177	79	446	702	56	137

* Bilans pour lesquels aucune explication est fournie. Elites 1 : Cyclistes professionnels ; Elite 2 : Cyclistes amateurs dont 219 sportifs de haut niveau (SHN).

Tableau VIII : Répartition des âges selon la discipline.

	<i>BMX</i>	<i>XC</i>	<i>Cyclo Cross</i>	<i>Descente</i>	<i>Poursuite</i>	<i>Route Pro</i>	<i>Route Amateur</i>	<i>Trial</i>	<i>Vitesse</i>
Age (E.T.)	21.1 (4.2)	24.2 (4.4)	23.6 (5.7)	21.5 (3.0)	22.2 (4.3)	27.1 (5.2)	25.4 (4.6)	20.8 (3.4)	22.0 (4.4)
Min.	16.1	17.2	16.7	16.3	17.1	19.6	17.0	17.4	17.2
Max.	32.4	37.9	35.1	28.5	36.9	35.1	43.8	24.2	30.9

Tableau IX : Répartition des volumes d'entraînement et de compétition.

<i>Catégorie</i>	<i>Heures hebdomadaires</i>	<i>Jours de compétition</i>
Elite 1 route	20 à 25 (25-35000 km/an)	80 à 100
Elite 2 route	12 à 25 (15-30000 km/an)	50 à 80
VTT cross	12	35 à 50
Vitesse	10 à 20	35 à 50
VTT descente	8 à 12	25 à 40
BMX	8 à 12	25 à 40

Les disciplines de route, de VTT cross-country, cyclo-cross et poursuite ont été regroupées dans une catégorie d'endurance. Les disciplines de VTT descentes, trial, BMX et vitesse ont été regroupées dans une catégorie de résistance.

On pourra remarquer que cette population est à 80% composée de sportifs d'endurance et à 90% d'hommes.

Les sportifs d'endurance sont plus âgés que les sportifs de résistance et ont un indice de masse corporelle plus bas.

Les prélèvements sont réalisés 3 fois par an pour les amateurs (avril, juillet, novembre) et 4 fois pour les professionnels (Janvier, Avril, Juin-Juillet, Septembre-Octobre) correspondant aux périodes de compétition (printemps, été), d'entraînement en volume (Janvier) et de repos (ou de semi repos) pour la plupart des cyclistes ayant une activité "out-door" (automne).

Résultats

Variation saisonnière des paramètres

L'étude de la variation saisonnière permet d'apprécier les effets de la pratique du sport sur certains paramètres.

Deux exemples d'analyse sont donnés sur l'évolution des pourcentages de valeurs anormales des hémocrites (Figure 1) plasmatiques et du nombre de réticulocytes (Figure 2) et sur l'évolution des moyennes des concentrations plasmatique d'ostéocalcine (Figure 3) et de testostérone (Figure 4) des cyclistes d'endurance respectivement durant les saisons 2001 et 2003.

Figure 1

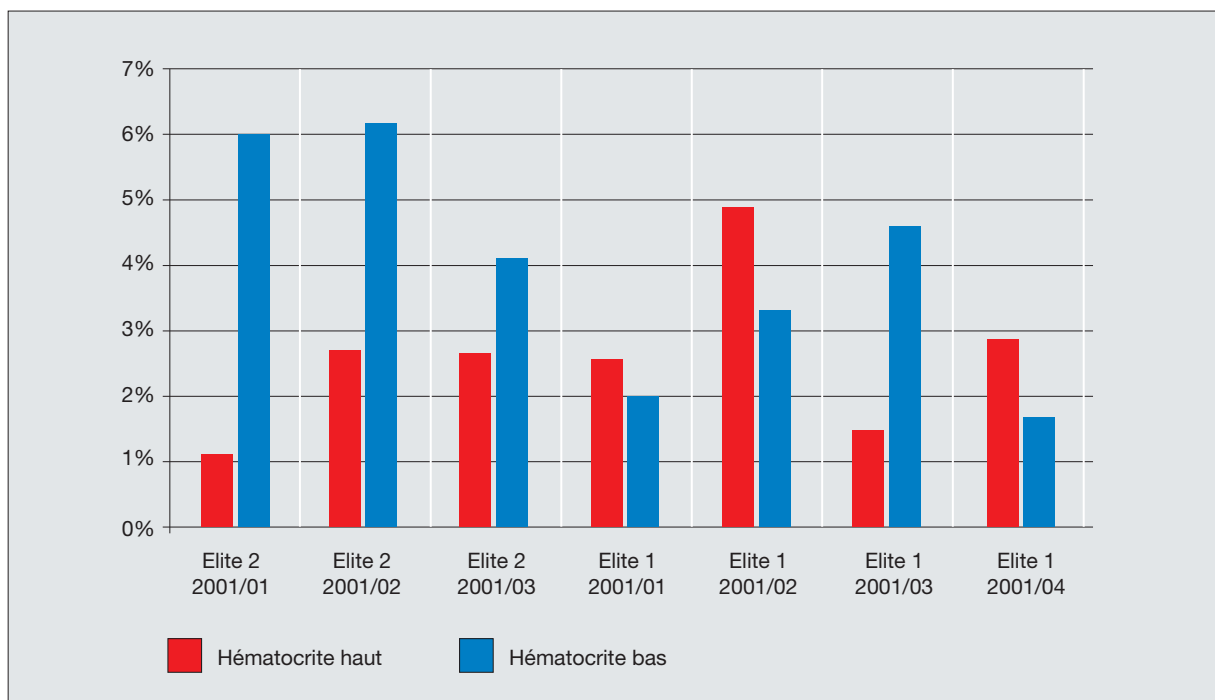


Figure 2

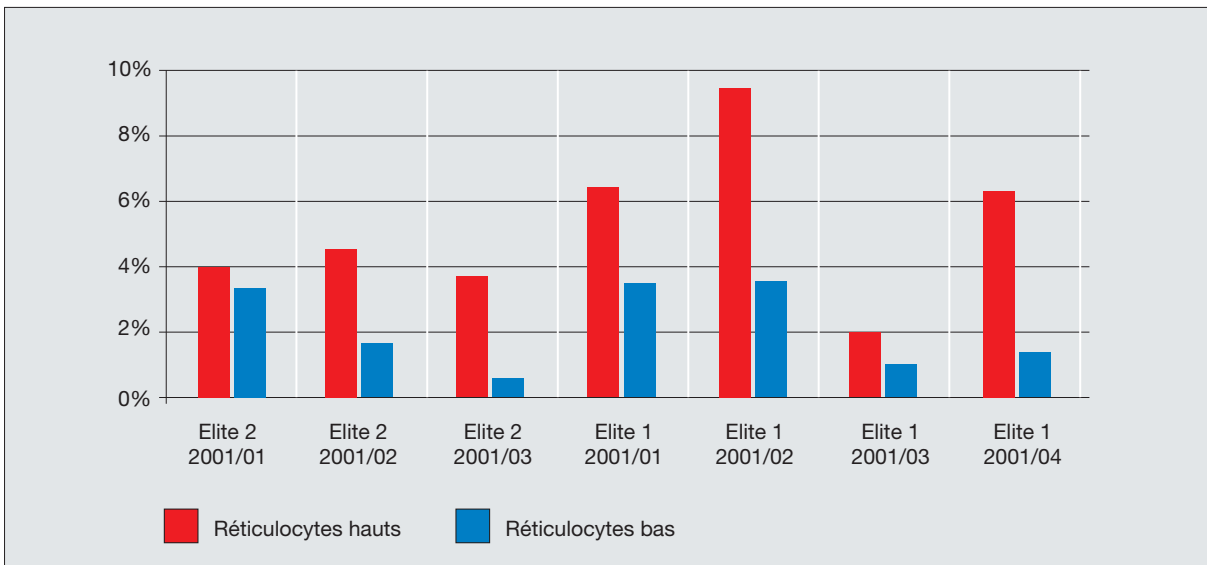
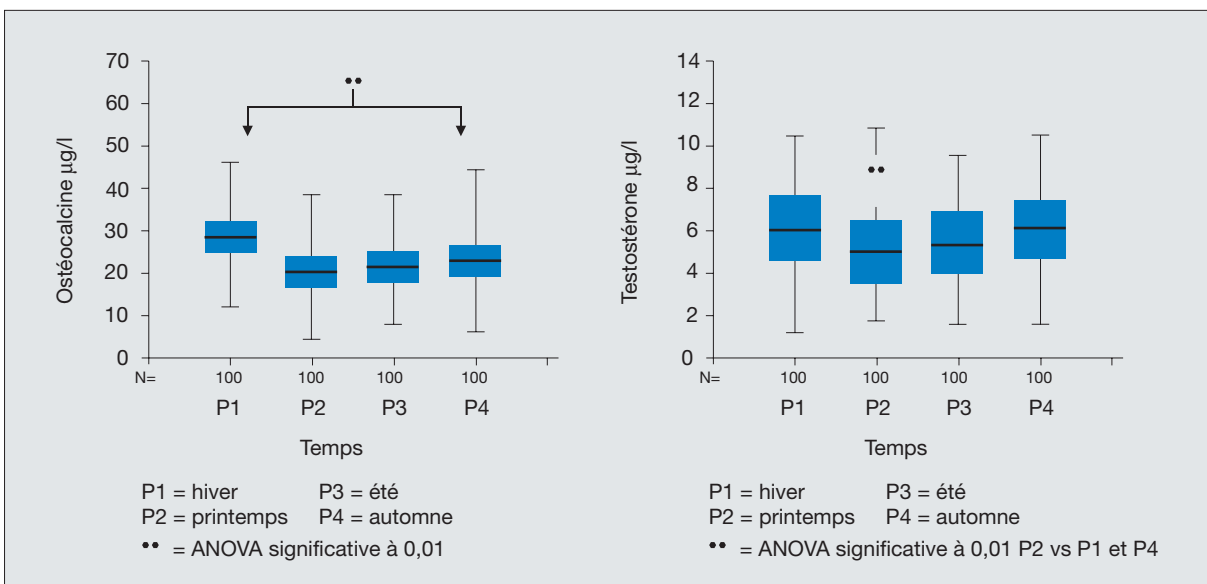


Figure 3 et 4



L'influence de la pratique cycliste sur l'hématocrite apparaît plus nette sur les valeurs basses, dont les pourcentages diminuent avec la réduction de la pratique sportive (Figure 1), périodes 01/3 et 01/4 respectivement pour les élite 2 et les professionnels). Elle apparaît moins nette pour les hématocrite élevés ou les réticulocytes élevés (Figure 2). La même constatation peut être faite pour les réticulocytes bas.

Mesure de la variation saisonnière

L'analyse de la variabilité intra-individuelle peut s'effectuer grâce à la mesure du "least significant change (LSC)" (52-54) ou du "minimum significant change" (MSC ; 55), au moyen des équations suivantes :

$$\text{MSC} = 2 \times \text{CVI}$$

$$\text{LSC} = 1.96 \times \sqrt{2} \times \sqrt{(\text{CVA}^2 + \text{CVI}^2)}$$

Le CVA est le coefficient de variation analytique de l'appareil.

Le CVI est le coefficient de variabilité intra-individuelle, obtenu en réalisant la moyenne des coefficients de variation intra-individuelle. Soit la moyenne des ratios écart type/moyenne du paramètre dosé de manière répétitive (en l'occurrence 3 prélèvements pour les amateurs, 4 prélèvements pour les professionnels).

Les CVI des différents paramètres en fonction de la discipline et de la catégorie sont donnés dans les [Tableaux Xa et Xb](#).

Tableau Xa : Comparaison des coefficients de variation intra-individuels de paramètres hématologiques selon le type de pratique et la catégorie (durant la saison 2000).

	<i>Hte</i>	<i>Hb</i>	<i>VGM</i>	<i>Réticul.</i>	<i>sTFR</i>	<i>EPO</i>	<i>Ferritine</i>
Professionnels hommes, n=185*	4,2%	4,1%	1,9%	36,3%	18,8%	32,7%	34,0%
Amateurs endurance hommes, n=324*	4,0%	4,1%	1,6%	31,4%	33,0%		27,8%
Résistance amateurs hommes, n=52*	3,6%	3,3%	1,1%	30,2%	31,3%		22,3%

Hte : hématoците, *Hb* : hémoglobine plasmatique, *VGM* : Volume Globulaire Moyen, *Réticul.* : taux des réticulocytes, *sTFR* : valeur plasmatique des récepteurs solubles à la transferrine, *EPO* : érythropoïétine.

* Ne sont comptabilisés que les coureurs ayant bénéficié de 3 (ou 4 prélèvements pour les professionnels) au sein du même laboratoire.

Tableau Xb : Comparaison des coefficients de variation intra-individuels de paramètres hormonaux selon le type de pratique et la catégorie (durant la saison 2003).

	<i>Ostéocalcine</i>	<i>Cortisol</i>	<i>Testostérone</i>	<i>IGF1</i>
Professionnels hommes, n=100*	27,8%	23,9%	23,9%	16,4%
Amateurs endurance hommes, n=261*	23,6%	20,9%	20,7%	17,3%
Résistance amateurs hommes, n=44*	18,5%	19,2%	16,2%	13,1%

IGF-1 : Insulin-like growth factor. *Ne sont comptabilisés que les coureurs ayant bénéficié de 3 (ou 4 prélèvements pour les professionnels) au sein du même laboratoire.

Application pratique : Un changement entre 2 valeurs (exprimé en pourcentage) sera considéré comme significatif, s'il est supérieur à MSC (avec un intervalle de confiance à 92%) ou LSC (intervalle de confiance à 95% dans l'exemple choisi).

Cette méthode est applicable chez le sportif pour dépister des variations pathologiques ou induites par la prise de médicaments licites ou illicites.

Exemple à partir du CVI de l'hémoglobine :

A la question : "Est-il possible physiologiquement de passer d'une concentration plasmatique d'hémoglobine de 145 g/l à 165 g/l ?", l'approche du CVI peut être pertinente d'autant plus que ces 2 valeurs se situent dans les zones de référence de la normale.

Différence en % : $(165 - 145) / 145 = 13.7\%$

MSC hémoglobine (Cf. Tableau Xa) = 7.3 à 8.4%

LSC hémoglobine (CVA = 1.5% (46)) = 10.8 à 12%

La réponse est donc non avec un risque d'erreur inférieur à 5%, sachant que les CVI obtenus sont probablement surestimés par rapport à des non-sportifs, car ils ont été mesurés chez des cyclistes compétiteurs. L'ensemble des facteurs de variations intra-individuels physiologiques et non physiologiques est donc pris en compte.

Analyse par paramètres (Tableau XI)

Tableau XI : Pourcentage de valeurs anormales de cyclistes professionnels au cours du prélèvement d'été de la saison 2003.

	Hb	Hte	VGM	Réticul.	Ostéo	Cortisol**	Testo	IGF1***	Ferritine
Effectif	164	164	163	124	135	162	163	135	162
Borne supérieure	130 g/l	40%	98 μ 3	100 G/l	48 μ g/l	43 μ g/l	3 μ g/l	200 μ g/l	25 μ g/l
Borne inférieure	175 g/l	50%	82 μ 3	20 G/l	22 μ g/l	223 μ g/l	9 μ g/l	440 μ g/l	250 μ g/l
% haut	0,6%	0,6%	4,3%	9,7%	0,0%	24,1%	3,7%	1,5%	29,6%
% bas	1,2%	5,5%	0,0%	3,2%	50,4%	1,2%	6,1%	12,6%	0,0%

Hb : Hémoglobine plasmatique, Hte : Hématocrite, VGM : Volume Globulaire Moyen, Réticul. : Réticulocytes, Ostéo : ostéocalcine plasmatique, Testo : testostérone plasmatique, IGF-I : Insuline-like Growth Factor.

* hommes entre 21 et 30 ans

** Le matin entre 7 heures 30 et 9 heures 30

*** Sujets âgés de 21 à 30 ans

Anomalies de la testostérone :

Pour les valeurs élevées, on constate une augmentation au cours de l'été chez les Elite 2. Compte tenu de l'augmentation des charges de compétition durant cette période (augmentation du stress et négativation potentielle de la balance énergétique) une augmentation des valeurs basses était plutôt attendue. C'est ce qui est constaté chez les Elite 1. Les 2 populations ne sont pas strictement comparables puisqu'il y a des disciplines de forte vitesse dans la population Elite2. Une analyse comparative entre discipline d'endurance est souhaitable.

Pour les valeurs basses, la fluctuation saisonnière est plus marquée chez les Elite 1, avec une augmentation en cours de saison et une diminution en fin de saison

Anomalies du cortisol :

Pour les valeurs élevées, nous constatons une augmentation durant la saison de compétition avec une recrudescence en début de saison. L'évolution et les pourcentages sont comparables dans les 2 populations bien qu'elles ne soient pas strictement identiques (pas de féminines chez les Elite 1). Nous pouvons en déduire que les situations "d'hypercortisolisme" sont plus fréquentes chez les hommes Elite 1 que chez les Elite 2. Le stress, le nombre plus élevé de compétitions et de kilomètres parcourus sont certainement des facteurs explicatifs.

Pour les valeurs basses, la recrudescence saisonnière est marquée chez les Elite1. Un lien direct avec l'utilisation des glucocorticoïdes est hautement probable.

L'hyperactivité de l'axe corticotrope et les situations d'hypercorticisme vraisemblablement induites par l'utilisation des glucocorticoïdes sont des facteurs explicatifs des valeurs de testostérone basses.

Anomalies de l'IGF 1 :

Le détail des valeurs n'est pas présenté, mais nous avons observé des valeurs élevées de façon plus fréquente chez les Elite 2 ; la population étant plus jeune. Néanmoins, il est difficile d'expliquer la brutale chute des valeurs élevées en cours de saison au sein de cette même population. La fiabilité du kit utilisé (corrélation faible avec un kit de référence) limite la portée des conclusions que nous pouvons porter notamment pour les valeurs extrêmes, ainsi que le déclenchement des anomalies. Le changement de réseau de laboratoires permettra de pallier cet inconvénient ; les kits de dosages utilisés étant plus fiables.

Bibliographie

1. Choquet M, Bourdessol H, Arvers P, Guilbert P, De Péretti C 1999 Jeunes, sports, conduites à risques. In: Sports AcefplmdlJed (ed), p 153
2. Ministère de la Jeunesse, des Sports, et de la Vie associative Sports : les fédérations sportives, le sport de haut niveau, <http://www.jeunesse-sports.gouv.fr>
3. Saltin B, Astrand PO 1967 Maximal oxygen uptake in athletes. *J Appl Physiol* 23:353-8
4. Armstrong LE, VanHeest JL 2002 The unknown mechanism of the overtraining syndrome: clues from depression and psychoneuroimmunology. *Sports Med* 32:185-209
5. McEwen BS 1998 Protective and damaging effects of stress mediators. *N Engl J Med* 338:171-9
6. Nieman DC 1994 Exercise, upper respiratory tract infection, and the immune system. *Med Sci Sports Exerc* 26:128-39
7. Haskell WL 2001 What to look for in assessing responsiveness to exercise in a health context. *Med Sci Sports Exerc* 33:S454-8; discussion S493-4
8. Helenius IJ, Tikkanen HO, Haahtela T 1996 Exercise-induced bronchospasm at low temperature in elite runners. *Thorax* 51:628-9
9. Loucks AB, Mortola JF, Girton L, Yen SS 1989 Alterations in the hypothalamic-pituitary-ovarian and the hypothalamic-pituitary-adrenal axes in athletic women. *J Clin Endocrinol Metab* 68:402-11
10. MacConnie SE, Barkan A, Lampman RM, Schork MA, Beitins IZ 1986 Decreased hypothalamic gonadotropin-releasing hormone secretion in male marathon runners. *N Engl J Med* 315:411-7
11. Maron BJ 2003 Sudden death in young athletes. *N Engl J Med* 349:1064-75
12. Theintz GE, Howald H, Weiss U, Sizonenko PC 1993 Evidence for a reduction of growth potential in adolescent female gymnasts. *J Pediatr* 122:306-13
13. Demorest RA, Landry GL 2004 Training issues in elite young athletes. *Curr Sports Med Rep* 3:167-72
14. Fry RW, Morton AR, Keast D 1991 Overtraining in athletes. An update. *Sports Med* 12:32-65
15. Yamaji K, Shephard RJ 1977 Longevity and causes of death of athletes. *J Hum Ergol (Tokyo)* 6:15-27

16. Karvonen MJ 1976 Sports and longevity. *Adv Cardiol* 18:243-8
17. Sarna S, Sahi T, Koskenvuo M, Kaprio J 1993 Increased life expectancy of world class male athletes. *Med Sci Sports Exerc* 25:237-44
18. Lillioja S, Young AA, Culter CL, *et al.* 1987 Skeletal muscle capillary density and fiber type are possible determinants of *in vivo* insulin resistance in man. *J Clin Invest* 80:415-24
19. Tikkanen HO, Hamalainen E, Sarna S, Adlercreutz H, Harkonen M 1998 Associations between skeletal muscle properties, physical fitness, physical activity and coronary heart disease risk factors in men. *Atherosclerosis* 137:377-89
20. Parssinen M, Kujala U, Vartiainen E, Sarna S, Seppala T 2000 Increased premature mortality of competitive powerlifters suspected to have used anabolic agents. *Int J Sports Med* 21:225-7
21. Thiblin I, Lindquist O, Rajs J 2000 Cause and manner of death among users of anabolic androgenic steroids. *J Forensic Sci* 45:16-23
22. Queval I 2001 La culture sportive du dépassement de soi : entre santé et performance, quête du bien et quête du mieux. In: LEHENAFF D (ed) *La santé du sportifs de haut niveau*, Les cahiers de l'INSEP ed, Paris, pp 49-59
23. Association AP 1996 DSM IV Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux. Traduction française par Guelfi JD, Masson, Paris, Washington DC
24. Michel G 2001 Les dangers du sport. In: *La prise de risque à l'adolescence* Pratique sportive et usage de substances psycho-actives. Masson, Paris, pp 60-65
25. Lowenstein W, Arvers P, Gouarrier L, Porche A-S, Cohen M 2000 Activités physiques et sportives dans les antécédents de personnes prises en charge pour des addictions. *Annales de Médecine Interne* 151:A18-A26
26. Davis C, Katzman DK, Kirsh C 1999 Compulsive physical activity in adolescents with anorexia nervosa: a psychobehavioral spiral of pathology. *J Nerv Ment Dis* 187:336-42
27. Byrne S, McLean N 2002 Elite athletes: effects of the pressure to be thin. *J Sci Med Sport* 5:80-94
28. Sundgot-Borgen J 1999 Eating disorders among male and female elite athletes. *Br J Sports Med* 33:434
29. Augestad LB 2000 Prevalence and gender differences in eating attitudes and physical activity among Norwegians. *Eat Weight Disord* 5:62-72
30. Loucks AB, Thuma JR 2003 Luteinizing hormone pulsatility is disrupted at a threshold of energy availability in regularly menstruating women. *J Clin Endocrinol Metab* 88:297-311

31. Barron JL, Noakes TD, Levy W, Smith C, Millar RP 1985 Hypothalamic dysfunction in overtrained athletes. *J Clin Endocrinol Metab* 60:803-6
32. Warren MP, Voussoughian F, Geer EB, Hyle EP, Adberg CL, Ramos RH 1999 Functional hypothalamic amenorrhea: hypoleptinemia and disordered eating. *J Clin Endocrinol Metab* 84:873-7
33. Warren MP 1999 Health issues for women athletes: exercise-induced amenorrhea. *J Clin Endocrinol Metab* 84:1892-6
34. Misra M, Miller KK, Bjornson J, *et al.* 2003 Alterations in growth hormone secretory dynamics in adolescent girls with anorexia nervosa and effects on bone metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 88:5615-23
35. Rickenlund A, Thoren M, Carlstrom K, von Schoultz B, Hirschberg AL 2004 Diurnal profiles of testosterone and pituitary hormones suggest different mechanisms for menstrual disturbances in endurance athletes. *J Clin Endocrinol Metab* 89:702-7
36. Drinkwater BL, Nilson K, Chesnut CH, 3rd, Bremner WJ, Shainholtz S, Southworth MB 1984 Bone mineral content of amenorrheic and eumenorrheic athletes. *N Engl J Med* 311:277-81
37. Nichols JF, Palmer JE, Levy SS 2003 Low bone mineral density in highly trained male master cyclists. *Osteoporos Int* 14:644-9
38. Laure P 1997 Epidemiologic approach of doping in sport. A review. *J Sports Med Phys Fitness* 37:218-24
39. Turblin P, Grosclaude P, Navarro F, *al. e* 1995 Enquête épidémiologique sur le dopage en milieu scolaire dans la région Midi-Pyrénées. *Science & Sports* 10:87-94
40. OFDT 2002 Drogues et dépendances, indicateurs et tendances. Observatoire français des drogues et toxicomanies (OFDT), Paris, p 368
41. Laure P 1997 [General practitioners and doping in sports: knowledge and attitudes]. *Sante Publique* 9:145-56
42. CPLD 2004 Rapport d'activité du conseil de prévention et de lutte contre le dopage. Juin 1999 - Décembre 2003. Conseil de prévention et de lutte contre le Dopage (CPLD), <http://www.cpld.fr/>
43. Ministère de la Jeunesse, des Sports, et de la Vie associative Le dopage, www.sant-sport.gouv.fr
44. Lasne F, de Ceaurriz J 2000 Recombinant erythropoietin in urine. *Nature* 405:635
45. Gareau R, Audran M, Baynes RD, *et al.* 1996 Erythropoietin abuse in athletes. *Nature* 380 :113

46. Parisotto R, Ashenden MJ, Gore CJ, Sharpe K, Hopkins W, Hahn AG 2003 The effect of common hematologic abnormalities on the ability of blood models to detect erythropoietin abuse by athletes. *Haematologica* 88:931-40
47. Tsushima T, Katoh Y, Miyachi Y, *et al.* 1999 Serum concentration of 20K human growth hormone (20K hGH) measured by a specific enzyme-linked immunosorbent assay. Study Group of 20K hGH. *J Clin Endocrinol Metab* 84:317-22
48. Wu Z, Bidlingmaier M, Dall R, Strasburger CJ 1999 Detection of doping with human growth hormone. *Lancet* 353:895
49. Jones JL, Clemmons DR 1995 Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev* 16:3-34
50. Wallace JD, Cuneo RC, Baxter R, *et al.* 1999 Responses of the growth hormone (GH) and insulin-like growth factor axis to exercise, GH administration, and GH withdrawal in trained adult males: a potential test for GH abuse in sport. *J Clin Endocrinol Metab* 84:3591-601
51. Longobardi S, Keay N, Ehrnborg C, *et al.* 2000 Growth hormone (GH) effects on bone and collagen turnover in healthy adults and its potential as a marker of GH abuse in sports: a double blind, placebo-controlled study. The GH-2000 Study Group. *J Clin Endocrinol Metab* 85:1505-12
52. Rosen HN, Moses AC, Garber J, Ross DS, Lee SL, Greenspan SL 1998 Utility of biochemical markers of bone turnover in the follow-up of patients treated with bisphosphonates. *Calcif Tissue Int* 63:363-8
53. Garnero P, Bianchi F, Carlier MC, *et al.* 2000 [Biochemical markers of bone remodeling: pre-analytical variations and guidelines for their use. SFBC (Societe Francaise de Biologie Clinique) Work Group. Biochemical markers of bone remodeling]. *Ann Biol Clin (Paris)* 58:683-704
54. Souberbielle JC, Cormier C, Kindermans C 1999 Bone markers in clinical practice. *Curr Opin Rheumatol* 11:312-9
55. Garnero P, Sornay-Rendu E, Claustrat B, Delmas PD 2000 Biochemical markers of bone turnover, endogenous hormones and the risk of fractures in postmenopausal women: the OFELY study. *J Bone Miner Res* 15:1526-36

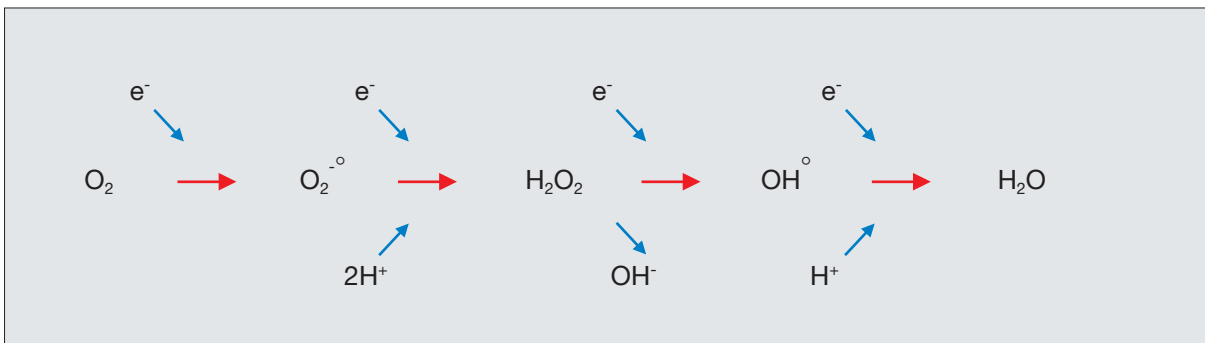
**Sport-Stress-Nutrition :
ce que doit savoir le biologiste
(S. Palazzetti)**

CHAPITRE IV

Introduction

L'oxygène (O_2), indispensable aux organismes supérieurs, représente un véritable paradoxe. A la fois essentiel pour leur survie, il est potentiellement délétère à l'égard de leur existence. Environ 98% de l' O_2 , prélevé dans le milieu par les organismes aérobies, subit une réduction tétravalente conduisant à la formation d' H_2O . La fraction restante échappe à la voie métabolique classique, et par réductions monovalentes successives (Figure 1), des espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERDO), qui regroupent à la fois les radicaux libres (R°) et les substances assimilables à ces derniers, sont produites : anion superoxyde ($O_2^{\circ-}$), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et radical hydroxyl (OH°) (31). Parmi ces espèces, le OH° est le plus réactif et agressif pour tous les tissus. Le H_2O_2 n'est pas un R° , tout comme l'oxygène singulet (1O_2), mais possède des propriétés analogues (65).

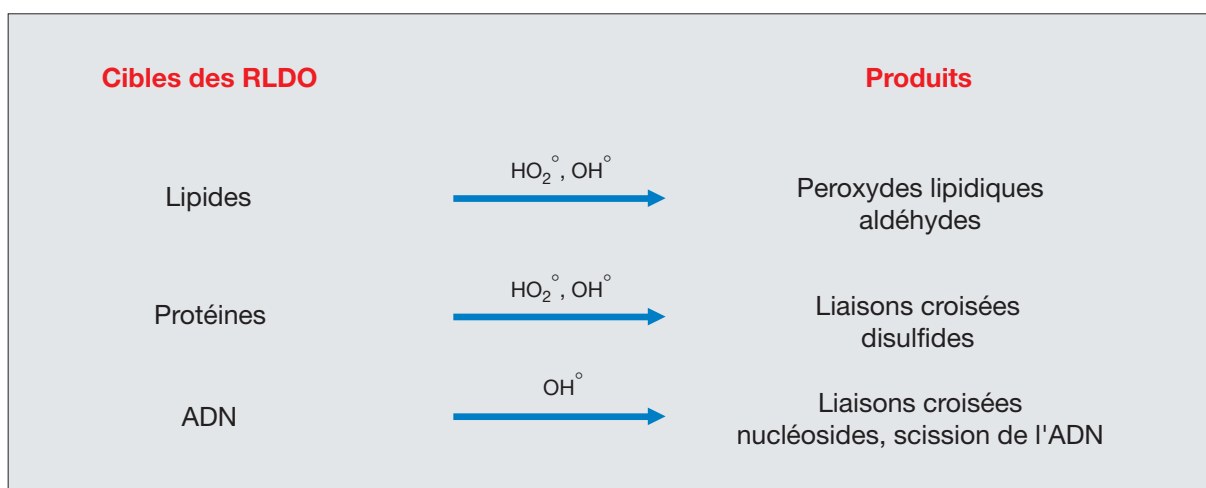
Figure 1 Réduction tétravalente d'une molécule d'oxygène (31).



Les ERDO sont continuellement produits *in vivo* (52) et principalement au niveau de la chaîne mitochondriale de transport des électrons (88). Par conséquent, la survie des organismes supérieurs, dans un tel contexte environnemental, n'est possible que par le développement de systèmes de défense antioxydants capables de neutraliser et de réduire les ERDO produites. Les R° , molécules ou atomes possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe (31), sont instables, très réactifs et ont un temps de demi-vie extrêmement court (10^{-9} , 10^{-6} s). Leur production est un phénomène ubiquitaire (53). Les métaux de transition, tels que le fer ou le cuivre, sous leur forme la moins oxydée (Fe^{2+} , Cu^+) peuvent, en réagissant avec les H_2O_2 , conduire à la formation de OH° par la réaction de Fenton (31). Les $O_2^{\circ-}$ produits au niveau mitochondrial et libérés dans le cytosol participe également à la production de OH° par leur capacité à réduire les ions Fe^{3+} en Fe^{2+} (réaction de Fenton) et à réagir avec les H_2O_2 (réaction d'Haber-Weiss) (40). La propaga-

tion des réactions radicalaires est limitée par le franchissement des membranes des différents compartiments cellulaires, l'action des antioxydants "piégeurs" (scavengers) de R° et leur auto-neutralisation (53). Le **stress oxydant** apparaît lorsque les systèmes de défense antioxydants sont débordés, c'est-à-dire lorsque l'équilibre entre les réactions prooxydantes et antioxydantes est rompu en faveur des premières. Ce déséquilibre prooxydant-antioxydant peut entraîner des modifications chimiques altérant les structures protéiques, lipidiques (peroxydation lipidique), glucidiques, ainsi que les nucléotides (Figure 2). D'autre part, outre ces lésions directes, les R° sont responsables de lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des produits libérés, notamment lors de la peroxydation lipidique, qui en se liant à l'ADN, vont former des adduits responsables de mutagenèse et carcinogénèse (44).

Figure 2 Principales cibles et principaux produits des ERDO pouvant être utilisés comme marqueurs biologiques de leur activité (traduit et adapté de Alessio (3)).



Production d'ERDO en situation d'exercice

Aujourd'hui, la connaissance des mécanismes biochimiques responsables de l'augmentation de la production d'ERDO en situation d'exercice demeure encore en grande partie évasive. Plusieurs mécanismes à la fois primaires et secondaires sont proposés de manière non exhaustive.

Mécanismes primaires

En situation d'exercice, les réactions métaboliques mitochondriales s'accroissent pour répondre à la demande énergétique des muscles squelettiques. Cela se traduit par une augmentation de la consommation d'oxygène et de la production d'ERDO (8,13,32,65,70) ; dépendante de l'intensité de l'exercice. Il est aujourd'hui clairement établi que la **mitochondrie** est l'un des principaux sites de formation d'ERDO dans le muscle squelettique en situation d'exercice.

Dans les activités physiques comprenant de la course à pied, **l'hémolyse intravasculaire**, consécutive aux microtraumatismes d'origine mécanique provoqués par la répétition des chocs plantaires lors des phases d'appui répétées, conduit à la libération d'hémoglobine et de myoglobine (142). La dégradation de ces deux protéines, contenant du fer, peut conduire à la formation de OH° par la réaction de Fenton (53).

Mécanismes secondaires

Les dommages musculaires consécutifs à l'exercice sévère sont susceptibles d'entraîner une réponse inflammatoire et/ou immunologique (19,38). Les **polynucléaires neutrophiles**, qui participent à la défense tissulaire et protègent l'organisme des invasions virales et bactériennes, sont activés dès lors qu'apparaissent des endommagements musculaires ou tissulaires, provoqués soit par les processus oxydatifs induits par les ERDO ou simplement par étirement ou autres contraintes mécaniques (58,117,155). En phase aiguë, les polynucléaires neutrophiles migrent vers les sites lésés et libèrent des O_2° formés à partir de l'activation de la myéloperoxydase et de la NADPH oxydase (117,165). Les O_2° ainsi produits pourront alors être spontanément convertis par réaction de dismutation en H_2O_2 , qui eux-mêmes pourront réagir avec des ions Fe^{2+} , transitoirement présents sous forme libre au niveau des tissus musculaires endommagés, pour former des OH° très

réactifs (64). Cette réponse inflammatoire participe donc à la fois à l'élimination de protéines endommagées et à la prévention des infections virales et bactériennes, mais également au développement de dommages oxydatifs secondaires, tels que les peroxydations lipidiques, en période de récupération (151).

L'**hypoxie** tissulaire locale (foie, reins), qui peut être observée en situation d'exercice intense - suite à la redistribution du sang en faveur des muscles et de la peau - s'accompagne de perturbations métaboliques (95). La déplétion en ATP entraîne une augmentation de la concentration d'AMP, dégradée en adénosine, inosine et finalement en hypoxanthine. Simultanément, l'augmentation de la concentration de Ca^{2+} cytosolique active une protéase qui catalyse la transformation de la xanthine déshydrogénase (XDH) en xanthine oxydase (XO). Lors de la reperfusion tissulaire, en situation post-exercice, l'enzyme XO catalyse l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine et en acide urique par l'oxygène moléculaire, avec formation d' O_2^- (70).

D'autres mécanismes ont été passés en revue par Ji (70). Dans les conditions physiologiques dites normales, les **microsomes hépatiques** produisent des ERDO principalement *via* le système de la cytochrome P450 (168). Il a été rapporté que l'augmentation microsomale de la production de H_2O_2 , à partir de l'oxydation du NADPH et de la dismutation du produit formé, serait proportionnelle à l'augmentation de la consommation d'oxygène (53). On peut donc raisonnablement penser que ce mécanisme puisse être renforcé en situation d'exercice.

En présence d'ADP et d'ions Fe_3^+ , la **NADPH oxydase** catalyse le transfert d'un électron du NADPH à l' O_2 pour produire l' O_2^- . Cette enzyme, présente dans de nombreux constituants cellulaires et notamment dans les mitochondries, est activée en situation d'exercice prolongé et épuisant chez le rat non entraîné (13). Il en résulte alors une augmentation significative de la production de R° .

Les **catécholamines**, responsables de l'augmentation du métabolisme oxydatif au niveau du myocarde et des muscles squelettiques *via* l'activation des récepteurs b-adrénergiques, s'élèvent en réponse à l'exercice prolongé (89), pouvant ainsi favoriser l'augmentation de la production d'ERDO mitochondriale. D'autre part, les catécholamines, normalement métabolisées par le groupe d'enzymes monoamine oxydase et catéchol-orthométhyl transférase, peuvent également être oxydées et conduire à la formation d' O_2^- et de H_2O_2 (168).

Les **péroxisomes**, organites cellulaires impliqués dans l'oxydation non mitochondriale des acides gras et des acides aminés, contribuent dans les conditions physiologiques dites normales au maintien d'une production stabilisée de H_2O_2 (70). L'inanition prolongée induit une augmentation de la production de H_2O_2 favorisée principalement par l'augmentation de l'oxydation des acides gras *via* la b-oxydation au niveau des péroxisomes (47). Il est bien établi qu'en situation d'exercice prolongé, les acides gras sont le principal substrat énergétique du myocarde et des muscles squelettiques (70). Les péroxisomes pourraient donc constituer des sites potentiels de production d'ERDO en situation d'exercice prolongé.

Mesure de l'activité des radicaux libres

La résonance électronique de spin et la résonance paramagnétique électronique sont deux méthodes qui permettent de détecter la présence de R° dans les systèmes biologiques *in vitro* et *in vivo* (3). Toutefois, ces méthodes de mesure sont peu reproductibles en pratique car très peu sensibles en raison de la demi-vie courte des R° , et se révèlent donc être incompatibles avec la durée nécessaire pour effectuer un prélèvement sanguin, le transporter au laboratoire et l'analyser (44). Il est aujourd'hui possible d'évaluer en routine, par spectrophotométrie ("d-ROMs test", Diacron s.r.l., Grosseto, Italy), directement les H_2O_2 produits à partir d'une gouttelette de sang capillaire (20 μ l) (156).

Diversité des marqueurs de l'activité des radicaux libres

Marqueurs de la peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique, terme générique décrivant l'ensemble des réactions entre R° et acides gras polyinsaturés (AGPI), a pour conséquence une diminution de la fluidité membranaire cellulaire ou mitochondriale (24), une augmentation de la perméabilité aux substances qui ne doivent normalement pas la traverser, et une inactivation des enzymes structurales membranaires (53).

Les **diènes conjugués** (DC), formés à partir de l'oxydation des AGPI, absorbent le rayonnement ultraviolet. La mesure de l'absorbance est utilisée comme indice de peroxydation lipidique (53). Cette mesure est fiable pour l'évaluation précoce des peroxydations lipidiques (52). Ceci semble être vérifié en situation d'exercice aigu prolongé (157,159,160) et chronique (157). Toutefois, les DC peuvent également être produits par le métabolisme des acides gras dans des circonstances autres que celle de la peroxydation lipidique (52). Cette production parallèle "pollue" alors l'estimation de la peroxydation lipidique ; et c'est probablement la raison pour laquelle le dosage des DC reste, à ce jour, insatisfaisant.

L'oxydation des ions Fe^{2+} en présence d'hydroperoxydes lipidiques conduit à la formation d'ions Fe^{3+} . Les ions ferriques, en réagissant avec le xylénol orange, forment alors une substance chromogène (Fe^{3+} -xylénol orange) mesurée par spectrophotométrie à 560 nm (75). Cette méthode, sensible, qui permet d'évaluer directement les niveaux d'**hydroperoxydes lipidiques**, donnerait des résultats comparables à celle des DC (75).

La décomposition des hydroperoxydes au cours des réactions de peroxydation lipidique conduit à la formation d'aldéhydes, et notamment de **malondialdéhyde** (MDA). Sa concentration dans le muscle s'élève en réponse à un exercice maximal chez le rat (32). Le dosage du MDA dans le plasma permet d'évaluer la peroxydation lipidique. Toutefois, à l'exclusion de dosages en chromatographie liquide haute performance (HPLC), aucune méthode, à ce jour, ne permet le dosage du MDA isolément (122). Le MDA a la propriété de réagir avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former une substance chromogénique. Ce sont les produits de cette réaction qui sont le plus couramment dosés pour estimer la concentration d'un échantillon en MDA. Toutefois, d'autres substances sont susceptibles de réagir avec le TBA,

et c'est la raison pour laquelle cette méthode n'est pas spécifique du MDA (163). L'autre inconvénient de la méthode réside dans le fait que le MDA est un produit terminal de la peroxydation lipidique, c'est-à-dire que des réactions intermédiaires peuvent se dérouler entre la peroxydation et la formation de cet aldéhyde. En conséquence, les niveaux de MDA pourraient ne pas être proportionnels aux réactions de peroxydation lipidique. Le dosage du MDA par HPLC permet d'éliminer la plupart des artefacts (52). Cette méthode est donc spécifique (41). Parmi les méthodes indirectes, le dosage du MDA dans le plasma, par l'action des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS), est le plus connu et le plus couramment utilisé (53). Cette méthode reste la plus rapide et la moins onéreuse (52). En réponse à un exercice aigu, de courte ou de longue durée, le niveau des TBARS plasmatique est maximal entre la fin de l'effort (7,58,81,162) et la 6ème heure de récupération (94). Récemment, on a même rapporté des niveaux élevés des TBARS plasmatique après 1 semaine de récupération post-marathon (58). L'estimation des peroxydations lipidiques peut également s'effectuer de manière non invasive par le dosage du MDA urinaire (50). En réponse à l'exercice aigu supramaximal de courte durée (49) ou l'exercice chronique en endurance (67), l'excrétion urinaire de MDA peut être augmentée, rendant difficile l'interprétation des valeurs plasmatiques.

Le **4-hydroxynonéal** (4-HNE) est un des aldéhydes formé à partir des AGPI, des phospholipides membranaires et des lipoprotéines (41). Il est considéré comme un indice fiable de la peroxydation générée par la production de R° , mais a encore rarement été évalué dans les conditions d'exercice et/ou d'entraînement, et ceci à la fois chez l'homme (23) et l'animal (119).

La décomposition des peroxydes lipidiques, impliquant les ions métalliques, produit des **hydrocarbures volatils** (éthane et pentane) éliminés dans les gaz expirés. La mesure des hydrocarbures exhalés est une méthode non invasive, qui consiste à analyser le contenu en éthane et pentane de l'air expiré (113). C'est en 1978, qu'il a été rapporté, pour la première fois chez l'homme, une augmentation du niveau de pentane exhalé en réponse à un exercice aigu réalisé sur ergocycle (1 heure à 75% de) (35). Plus récemment, l'élévation du pentane exhalé a pu être observée chez des militaires en réponse à une période d'entraînement intensive réalisée en moyenne montagne et dans le froid (136). Cette méthode, qui a l'avantage d'être facilement utilisable en biologie clinique, présente l'inconvénient d'être sensible aux variations des débits métaboliques, ou à une alimentation riche en AGPI (113). En situation d'exercice, d'autres hydrocarbures, notamment l'isopentane, peuvent venir perturber la mesure (143). En l'absence, d'ions métalliques, la réaction n'a pas lieu (52), ce qui signifie que les peroxydations lipidiques ne conduisent pas dans tous les cas à l'exhalation de pentane. Enfin, cette méthode ne permet pas de déterminer avec précision le site des peroxydations (62).

La **méthode de fluorescence** permet de mesurer des aldéhydes pouvant se polymériser en des produits fluorescents. La méthode est complexe mais très sensible (52). Comme les TBARS, cette mesure permet une estimation de produits terminaux. Ceci implique que des antioxydants puissent agir avant la formation de ces aldéhydes et conduire à la sous-estimation des produits de la peroxydation lipidique. C'est la raison pour laquelle, semble-t-il, le dosage des substances fluorescentes a donné des résultats similaires à ceux des TBARS en réponse à des exercices aigus (1 et 10 km en course à pied) et chronique (épreuve cycliste sur 8 jours) chez des sujets entraînés (157).

Les **isoprostanes**, de la famille des eicosanoïdes d'origine non enzymatique, sont des produits chimiques terminaux, stables, issus de l'oxydation par les R° des acides arachidoniques (153). Évalués dans les liquides biologiques et les tissus, ils fournissent un indice non invasif, quantitatif du stress oxydant *in vivo* (123). Les F2-isoprostanes sont des produits spécifiques de la peroxydation lipidique, stables, non affectés par l'apport alimentaire lipidique et dont la formation est modulée par les apports et le potentiel antioxydants (123,164). Il existe deux méthodes qui permettent de quantifier les isoprostanes dans les liquides biologiques : la spectrométrie de masse et les méthodes immunologiques. L'utilisation de ce marqueur dans les études menées sur les effets de l'exercice est très récente. Mastaloudis *et al.* (92) ont observé chez des coureurs et coureuses à pied entraînés une augmentation significative des niveaux de F2-isoprostanes plasmatiques en réponse à une épreuve de trail de 50 km, témoignant d'une augmentation de la peroxydation lipidique. Nieman *et al.* (102) ont également rapporté chez des coureurs à pied modérément entraînés et supplémentés en vitamine C (1500 mg.j⁻¹ pendant 7 jours) une augmentation significative des niveaux de F2-isoprostanes plasmatiques en réponse à une épreuve d'ultraendurance. Sackey *et al.* (129) ont rapporté des valeurs pics de F2-isoprostanes 72 heures après un exercice de type excentrique.

Il semble qu'aucune méthode d'évaluation des peroxydations lipidiques ne soit suffisante à elle seule. D'autre part, outre la complexité du phénomène de peroxydation lipidique, la diversité des produits formés nécessite de prendre en compte plusieurs indices afin d'en évaluer, objectivement, l'étendue. Il est souhaitable de préférer la mesure de produits initiaux à celle des produits terminaux de la peroxydation lipidique. La précocité de l'apparition du produit garantit un moindre effet des composés susceptibles d'interagir au cours des réactions suivantes. Le MDA reste toutefois le marqueur de la peroxydation lipidique le plus couramment utilisé. Quel que soit le marqueur considéré, l'augmentation de la concentration des marqueurs indirects de peroxydation lipidique dans la circulation sanguine ne permet pas de présupposer du site des peroxydations lipidiques.

Exercice aigu et peroxydation lipidique

De nombreuses études réalisées chez le sujet entraîné à très entraîné (25,58,77,91,97,110,157,158,160,162) et le sujet sédentaire (9,81,86,146) ont pu mettre en évidence une augmentation des niveaux circulants des produits de la peroxydation lipidique en réponse à un exercice aigu de courte, de moyenne ou de longue durée. D'autres auteurs, en revanche, n'ont fait état d'aucune modification d'indices de peroxydation lipidique en réponse à des niveaux de sollicitations physiologiques comparables, à la fois chez le sujet entraîné (39,89,104,159) et le sujet sédentaire (5,80). Cette discordance de résultats peut provenir de la diversité des techniques de dosage employées pour évaluer les produits de la peroxydation lipidique au niveau circulant, mais également, pour les sujets entraînés, de l'absence d'identification de leur état d'adaptation (adapté, non adapté) au moment de la réalisation de l'exercice. Il est surprenant de noter que la plupart des travaux qui ont étudié les effets d'un exercice aigu réalisé en compétition réelle n'ont pas observé de modification des indices de peroxydation lipidique (39,89,158). En effet, les sujets qui participent à des épreuves compétitives, telles qu'un semi-marathon, un triathlon longue distance ou un marathon, semblent être à priori des sujets bien adaptés. En revanche, les sujets pour lesquels peu d'informations relatives à leur état d'adaptation sont connues ou dont les charges d'entraînement sont les plus élevées avant la réalisation de l'exercice aigu standardisé ou simulé, présentent une élévation des indices de peroxydation lipidique (77,91,110,158). Il est bien établi qu'un déséquilibre entre la charge d'entraînement et le processus de récupération peut conduire à un état de surentraînement (45), caractéristique d'un défaut d'adaptation. Ces observations laissent donc suggérer que le processus de peroxydation lipidique en condition d'exercice aigu soit également dépendant de l'état d'adaptation des sujets (mal adaptés par un état de surentraînement ou de sédentarité vs adaptés) au préalable de l'exercice.

Entraînement et peroxydation lipidique

Les niveaux de base des produits de la peroxydation lipidique sont plus élevés chez les sujets de haut niveau d'entraînement et/ou de performance comparativement aux sujets sédentaires (10,91,133). Ils augmentent en réponse à des périodes d'exercice chronique, comprises entre 8 et 20 jours et physiologiquement très sollicitantes, chez des sujets de haut niveau d'entraînement et de performance (97,107,157). Ces observations témoignent d'un stress oxydant chronique associé à un haut niveau de sollicitations physiologiques chroniques. Cependant, l'entraînement n'est pas toujours associé à une modification des

niveaux de base des indices de peroxydation lipidique, à la fois dans le plasma (34,145), les érythrocytes (22,167) et le muscle squelettique (34,83,119,161). Cette discordance de résultats provient probablement de la spécificité des charges d'entraînement appliquées, des caractéristiques physiologiques des sujets étudiés et de la diversité des marqueurs de l'activité des R° utilisés.

Marqueurs de l'oxydation des protéines

Les **protéines** peuvent également subir des réactions radicalaires ou oxydatives. Celles comportant un groupement sulfhydryle (-SH) sont les plus sensibles aux attaques radicalaires (138). C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui après oxydation deviennent inactives et beaucoup plus sensibles à l'action des protéases. La présence d'ions fer ou cuivre complexés dans la structure de la protéine, catalysant la réaction de décomposition du H₂O₂ en OH°, peut faciliter l'initiation des réactions radicalaires. L'atteinte oxydative des protéines est principalement mesurée à partir des aldéhydes formées sur les protéines : les carbonyles protéiques, par réaction avec la dinitrophenylhydrazine (DNPH) en méthode colorimétrique (166). L'évaluation de ce dérivé d'oxydation protéique est très récente dans les études menées sur l'exercice, à la fois chez l'homme et l'animal. Le niveau de carbonyles protéiques plasmatique augmente en réponse à une épreuve progressive et maximale réalisée sur tapis roulant chez le sujet sédentaire (5). En revanche, 9 semaines d'entraînement en natation (119) ou 24 semaines d'entraînement en endurance en course à pied (100) ne modifie pas le niveau de carbonyles protéiques musculaire et myocardique, respectivement, chez le rat. Aucune étude n'a encore été conduite chez le sujet initialement entraîné à la fois en réponse à l'exercice aigu et/ou chronique.

Marqueurs de l'oxydation de l'ADN

La molécule d'**ADN** constitue une cible cellulaire importante pour les attaques radicalaires. Les modifications observées après action du radical OH° sont très nombreuses : conversion des résidus thymine en thymine glycol et en 5-hydroxyméthyluracile, de la guanine en 8-hydroxyguanine, ou oxydation du désoxyribose entraînant une coupure des brins (53). Ces dénaturations peuvent avoir de graves conséquences sur la réplication du génome. La recherche de produits d'oxydation radicalaire de l'ADN peut être réalisée dans des cellules circulantes isolées ou des biopsies, mais aussi dans l'urine où se retrouvent les composés oxydés (nucléosides ou bases) après leur excision par les enzymes de répara-

tion (44). En condition d'exercice, le niveau d'excrétion urinaire de 8-hydroxyguanine est positivement corrélé à l'intensité de celui-ci (6). Parmi les différentes techniques utilisées pour évaluer l'endommagement de l'ADN, la technique des comètes ou «Single Cell Gel Electrophoresis» est l'une des plus sensibles et des plus rapides et faciles à mettre en œuvre. Cette technique, qui permet de mettre en évidence les dommages de l'ADN au niveau de la cellule entière (43), est basée sur les propriétés de migration de l'ADN dans un champ électrique. Les cellules sont coulées dans un microgel d'agarose, puis lysées in situ. Après l'électrophorèse, l'ADN peut être visualisé au moyen d'un marqueur fluorescent spécifique : le bromure d'éthidium. L'addition d'un traitement alcalin permet en outre de visualiser non seulement les coupures simples et doubles brins de l'ADN, mais également les sites alcali-labiles (140). De nombreux critères d'évaluation des dommages de l'ADN sont proposés dans la littérature. Parmi ceux-ci, le « tail moment » ou moment de la queue de la comète est le plus couramment utilisé. Il est défini comme le produit de la distance mesurée du centre de la tête au centre de gravité de la queue de la comète (d) par le % d'ADN dans la queue (108) : Tail Moment = d x % d'ADN dans la queue. L'endommagement de l'ADN leucocytaire, mis en évidence par l'augmentation du moment de la queue de la comète, peut être observé 24 heures après un exercice aigu, de type épreuve progressive et maximale sur tapis roulant (55,104) , semi-marathon (105), triathlon courte distance (56) ou lors d'une épreuve de 50 km en course à pied (93), réalisé par des sujets entraînés. D'autre part, il a été rapporté que le pic d'endommagement de l'ADN leucocytaire consécutif à l'exercice serait atteint 72 heures après la fin de celui-ci (56). Il semblerait que l'entraînement puisse réduire de façon significative le niveau d'altération de l'ADN leucocytaire en réponse à un exercice aigu (104).

Système de défense contre les radicaux libres

Les effets délétères des ERDO, produits en situation d'exercice, sont neutralisés par différents systèmes antioxydants, exogènes et endogènes, enzymatiques et non enzymatiques, liposolubles ou hydrosolubles, membranaires ou cytoplasmiques, qui agissent en synergie.

Systèmes de défenses endogènes enzymatiques

Les cellules de l'organisme contiennent un certain nombre d'enzymes impliquées directement ou indirectement dans la défense antioxydante. Les superoxydes dismutases (SOD), les glutathions peroxydases (GSH-Px) et la catalase, qui agissent en synergie, constituent le premier système de défense. Les effets délétères des ERDO sont donc étroitement dépendants de l'activité de ces enzymes (69). D'autre part, la glutathion réductase (GR), la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH) et la glutathion S-transférase (GST) jouent également un rôle important en favorisant la formation de composés réduits grâce auxquels les réactions d'oxydation peuvent se produire (68). La seconde ligne de défense antioxydante comprend un groupe d'enzymes non spécifiques, pouvant soit réparer les dommages cellulaires créés par les ERDO, soit éliminer les molécules endommagées, telles que la phospholipase A₂ ou des protéases spécifiques (168). La cytochrome c oxydase a également une fonction antioxydante indirecte en raison de son extraordinaire affinité pour l'O₂, et de ce fait diminue la probabilité de réduction de l'O₂ au niveau de la membrane interne mitochondriale (168).

Les **SOD** sont des métalloenzymes responsables de la dismutation des O₂^{-°} en H₂O₂ (53). Deux formes principales de SOD sont identifiables dans les tissus de mammifères : la première localisée dans la mitochondrie, contient du manganèse (Mn-SOD), la seconde, cytosolique, contient du cuivre et du zinc (Cu-Zn-SOD) (141). Quarante pourcent des O₂^{-°} neutralisés le sont par la SOD, la fraction restante échappe à son action (53). En dépit de son activité antioxydante, la SOD contribue aussi à la formation d'ERDO, puisque le produit de sa réaction (H₂O₂) est susceptible d'être transformé en OH[°] en présence d'ions Fe₂₊ (101).

L'activité de la SOD érythrocytaire ne semble pas être modifiée par l'exercice aigu, de courte ou de longue durée, à la fois chez le sujet entraîné (39,89,97,110,149,162) et le sujet

sédentaire (81). Ainsi, ni le niveau d'adaptation, ni le type d'exercice réalisé (épreuve progressive et maximale, semi-marathon ou triathlon longue distance, par exemple) ne sembleraient modifier l'activité de la SOD érythrocytaire chez l'homme. Ces résultats ne sont pas surprenant dans la mesure où les érythrocytes présentent des caractéristiques génétiques particulières liées à l'absence de noyau et donc à l'incapacité de réguler la synthèse protéique. On peut donc s'interroger quant à l'intérêt d'évaluer l'activité des enzymes antioxydantes érythrocytaires en situation d'exercice aigu.

Par contre, en niveau de base, les sportifs de haut niveau d'entraînement et/ou de performance présenteraient une activité de la SOD érythrocytaire plus élevée que les sujets sédentaires (10,91,97). Cela témoigne donc d'un mécanisme d'adaptation du système antioxydant érythrocytaire avec l'entraînement qui à ce jour reste encore à identifier. L'activation du turn-over érythrocytaire (érythropoïèse) induite par la répétition d'un stress physiologique de haut niveau pourrait être l'un des mécanismes explicatifs. La durée de vie des érythrocytes, habituellement de 120 jours, pourrait être réduite chez le sujet de haut niveau d'entraînement (142), en raison des nombreuses contraintes métaboliques et mécaniques subies par ses érythrocytes (109). Le renouvellement plus précoce des érythrocytes, dans cette situation particulière, se traduirait par une augmentation de la proportion des érythrocytes jeunes - à l'intérieur de la masse érythrocytaire totale - dont l'équipement enzymatique, en particulier pour la SOD, est plus efficace comparé aux plus âgés (11). Enfin, le niveau de stress environnemental subi (intensité-durée des stimulations) pourrait activer la synthèse protéique réticulocytaire, et donc renforcer la réponse observée.

L'entraînement en endurance a pour effet d'augmenter l'activité de la SOD au niveau des muscles squelettiques chez l'homme (66) et l'animal (30,59,83,112,115). La réponse de la SOD à l'entraînement serait typologiquement spécifique, et plus importante au niveau des muscles à potentiel oxydatif élevé (60). D'autre part, il semblerait que ce soit l'augmentation de l'activité de la Mn-SOD, plutôt que celle de la Cu-Zn-SOD, qui serait responsable de l'augmentation de l'activité de la SOD musculaire avec l'entraînement (59,73). Cela conforte ainsi l'hypothèse selon laquelle la membrane interne mitochondriale serait la principale source de production d'ERDO au cours de l'exercice.

Les principales enzymes capables de neutraliser les H₂O₂ et les peroxydes organiques sont la catalase à cofacteur fer, localisée dans les érythrocytes et les péroxisomes hépatiques, et les GSH-Px séléno-dépendantes, présentes dans le cytosol, le plasma et les membranes cellulaires (53).

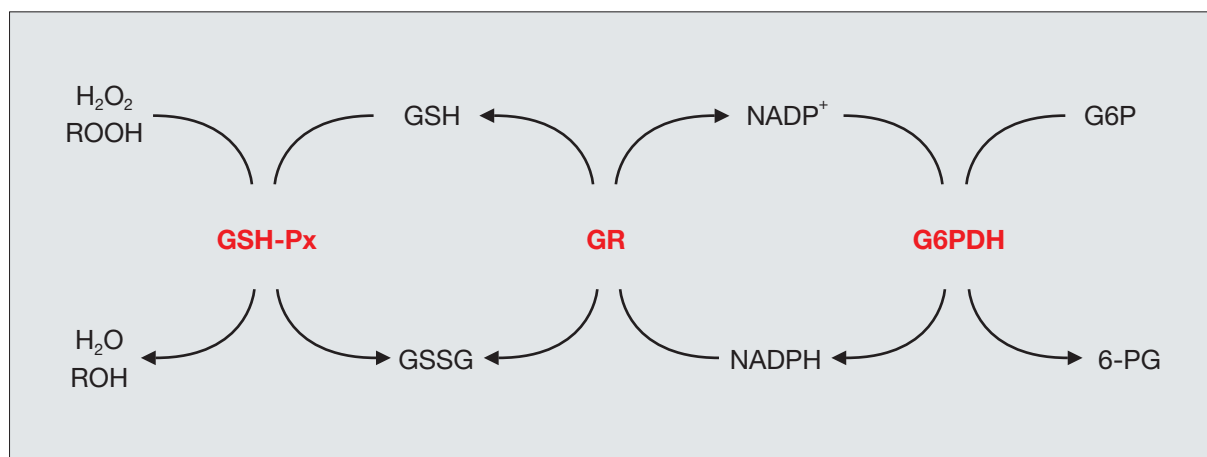
La **GSH-Px séléno-dépendante** catalyse la réduction du H_2O_2 en H_2O et des hydroperoxydes lipidiques en alcools correspondants, par l'oxydation du glutathion réduit (GSH). Bien que la GSH-Px et la catalase utilisent toutes les deux le même substrat (H_2O_2), la GSH-Px présente une affinité beaucoup plus importante pour le H_2O_2 à de faibles niveaux de concentration ($K_m = 1 \mu M$) comparativement à la catalase ($K_m = 1 mM$) (53). Le rôle de la GSH-Px est complémentaire de celui de la SOD, dont l'action limite la formation de OH° . L'activité de la GSH-Px érythrocytaire semble être peu modifiée par l'exercice aigu, de courte ou de longue durée, chez le sujet entraîné (39,89,91,97,110,162). Elle augmente, toutefois, en réponse à l'entraînement en endurance chez l'homme (99,152) et l'animal (22), initialement sédentaires. De plus, il semble que ce soit le volume des charges d'entraînement qui ait une influence directe sur l'activité de la GSH-Px érythrocytaire (91,97,124). L'amplitude des variations, avec l'entraînement, de l'activité de la GSH-Px au niveau des muscles squelettiques est dose dépendante. Ce sont les programmes pour lesquels l'intensité et/ou la durée et la densité de la charge sont les plus élevées que l'on rencontre une augmentation de l'activité de la GSH-Px musculaire, et ceci à la fois chez l'homme (57) et l'animal (30,73,82,83,84,115,139,161) initialement sédentaires. Il existerait donc une dose minimale en dessous de laquelle l'activité de la GSH-Px musculaire ne serait pas modifiée. A ce jour, aucune étude n'a encore été menée chez le sujet initialement entraîné. D'autre part, il semblerait que la réponse de la GSH-Px musculaire avec l'entraînement soit typologiquement spécifique. Elle augmente principalement au niveau des muscles à potentiel oxydatif élevé (30,83,115). En réponse à l'exercice aigu, l'activité de la GSH-Px musculaire peut également être augmentée chez le rat (71,72). Aucune étude n'a encore été menée chez l'homme.

La **catalase** neutralise de grandes quantités de H_2O_2 issus de la mitochondrie (53). L'activité de la catalase, au niveau érythrocytaire, est peu sensible à l'exercice aigu, de courte ou de longue durée, chez le sujet entraîné (39,68,91,97,126) et le sujet sédentaire (81,99). En revanche, elle est positivement corrélée à la charge d'entraînement (124). De même, l'activité de la catalase au niveau érythrocytaire (97) et musculaire (66) est plus élevée chez les sujets entraînés comparativement aux sujets sédentaires. Cela témoigne d'un mécanisme d'adaptation, qui toutefois reste à identifier.

Systemes de defense endogenes non enzymatiques

Le **glutathion** (GSH) est un tripeptide (L-g-glutamyl-L-cystéine glycine) ubiquitaire synthétisé dans le cytoplasme par les actions consécutives de la g-glutamylcystéine synthétase (GCS) et de la GSH synthétase (GS) (96). Le GSH constitue le principal antioxydant non enzymatique et la source la plus abondante de thiol non protéique de la cellule (17). L'oxydation du GSH par l'intermédiaire de la GSH-Px conduit à la formation du glutathion oxydé ou disulfide (GSSG). La glutathion réductase (GR), enzyme NADPH dépendante, permet de réduire le GSSG en GSH. Ainsi, la neutralisation des H_2O_2 et des peroxydes organiques par l'intermédiaire de la GSH-Px nécessite un flux de GSH recyclé par la coopération de plusieurs enzymes, notamment la GR qui réduit le GSSG en consommant du NADPH, lui même régénéré à partir de la G6PDH alimentée par le shunt des pentoses phosphates (**Figure 3**). Un arrêt de cette chaîne, en un point quelconque à l'intérieur de l'érythrocyte, aboutit au même phénomène d'hémolyse rencontré dans les anémies hémolytiques héréditaires par déficit en G6PDH ou en GR (14).

Figure 3 Schéma du cycle redox du glutathion.



Le GSH est impliqué outre dans l'inactivation des ERDO (96), dans la réduction des radicaux α -tocophéroxyls (106). Il prévient ainsi les réactions en chaîne des R° et le processus de peroxydation lipidique (168).

L'augmentation de l'activité de la GR érythrocytaire ou musculaire en réponse à l'entraînement est associée à une augmentation de l'activité de la GSH-Px chez l'homme (57) et l'animal (22,84,161), initialement sédentaires. En revanche, la relation inverse n'est pas toujours observée. En effet, après 10 semaines d'entraînement en endurance en course à pied chez des sujets initialement sédentaires, Tessier *et al.* (152) rapportent à la fois une augmentation de l'activité de la GSH-Px érythrocytaire et une baisse de l'activité de la GR

érythrocytaire. Les mêmes observations sont également faites chez l'animal au niveau musculaire après 8 semaines d'entraînement en course à pied (139). Au vu de ces résultats, il semblerait que l'équilibre dynamique du cycle redox du glutathion puisse être modifié avec l'entraînement. D'autre part, la réponse de la GR avec l'entraînement paraît une nouvelle fois typologiquement spécifique (83). Aucune étude n'a encore été menée chez le sujet initialement entraîné, et ceci à la fois en réponse à l'exercice aigu et/ou chronique.

En situation de stress oxydant, si la production d'ERDO cellulaire excède la capacité de recyclage du GSH, à partir de la GR NADPH-dépendante, le niveau de GSSG augmente et le rapport GSH:GSSG diminue. Cette réponse a pu être observée en situation d'exercice aigu à la fois chez le sujet entraîné (28,134), le sujet en état de surentraînement (110) et le sujet sédentaire (81,152). Plusieurs études ont rapporté une diminution du niveau de GSH sanguin en réponse à l'exercice aigu à la fois chez le sujet entraîné (39) et le sujet sédentaire (81,152). La diminution du niveau de GSH sanguin semble être étroitement liée à l'intensité de l'exercice (46). Il est à noter également que l'augmentation du niveau de GSSG en réponse à l'exercice aigu peut s'observer sans variation du niveau de GSH chez le sujet entraîné (58,134). A l'inverse, Ji (68) rapporte une augmentation du niveau de GSH sans augmentation concomitante de GSSG en réponse à un exercice aigu prolongé et épuisant chez le sujet entraîné. Les niveaux de GSH et de GSSG évalués au niveau sanguin étant fortement dépendants des capacités de synthèse, de recyclage, d'exportation et d'importation par les cellules, il semble difficile d'identifier le mécanisme qui puisse expliquer ces divergences de réponses à l'exercice aigu.

Dans le sang, le niveau de GSH est augmenté en réponse à l'entraînement chez l'homme (42) et l'animal (22) initialement sédentaires. Le volume hebdomadaire des charges d'entraînement en course à pied est positivement corrélé au niveau de GSH total érythrocytaire (124). Ainsi, l'augmentation du niveau de GSH sanguin en réponse à l'entraînement résulterait probablement d'une capacité d'exportation accrue, rendue possible par l'activation du cycle g-glutamyl. Cette réponse n'est pas toujours vérifiée. En effet, après 10 semaines d'entraînement en course à pied, Tessier *et al.* (152) ont rapporté une diminution concomitante des niveaux de GSH et de GSSG. Les auteurs attribuent cette diminution à une baisse de l'activité de la GR érythrocytaire. Celle-ci pourrait également être provoquée par une diminution de la capacité de synthèse dépendante du cycle g-glutamyl ou par une augmentation de la capacité d'importation cellulaire.

Systemes de defense exogenes

Les vitamines (C, E...), elements traces (selenium, zinc, cuivre...) et phytonutriments constituent un apport exogene de substances agissant directement ou indirectement en tant qu'antioxydants.

Le systeme antioxydant total

Dans les etudes cliniques, un indice global du statut antioxydant total est classiquement evalue: le TAS. Le TAS, compose essentiellement d'urate (35-65%), de proteines plasmatiques (10-50%), de vitamine C (< 24%) et de vitamine E (5-10%) (53) est positivement correle, chez des coureurs entraignes, au VO_2 pic (25). Chez des triathletes en etat de surentraînement, le TAS diminue en condition de repos (Figure 4) (110). Cette diminution traduit une transformation des composés antioxydants non enzymatiques, par un processus de regeneration - pour la vitamine C - ou de neutralisation - pour la vitamine E - des ERDO produits au cours des phases de stress metabolique repetees. Le deficit d'apports en vitamines C et E observe chez ces triathletes, au regard des apports nutritionnels conseilles pour la population sportive (51), peut egalement expliquer cette reponse. Ces observations revelent donc l'importance du maintien des apports nutritionnels en antioxydants exogenes adequats au regard des sollicitations physiologiques dans la prevention du maintien du statut antioxydant extracellulaire.

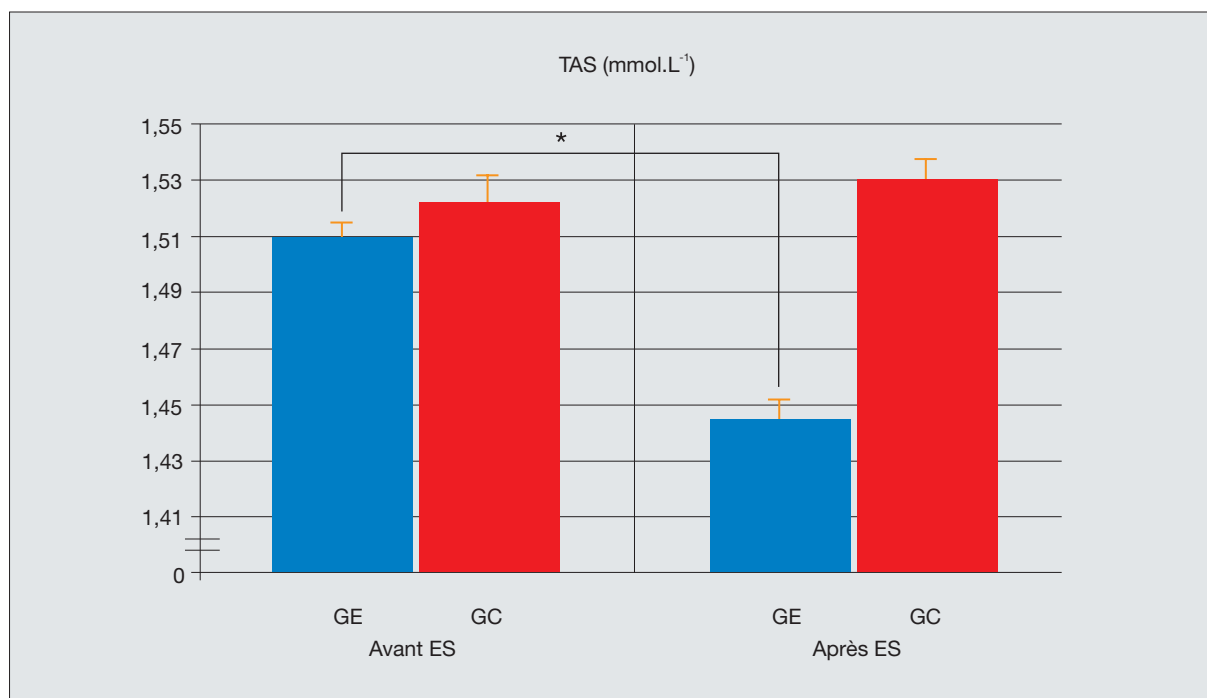


Figure 4 Niveaux du statut antioxydant total (TAS) plasmatique, avant et après 4 semaines de surcharge de l'entraînement (ES), chez des triathletes (GE, n = 9) et des sujets sedentaires (GC, n = 6). * $P < 0,05$: Difference significative entre avant et après (110).

Vitamines antioxydantes

Vitamine C

Ne pouvant être synthétisée par l'organisme humain, la **vitamine C** (ou acide ascorbique) doit être apportée par l'alimentation (128). Elle présente à la fois une action antioxydante directe, en réagissant avec les $O_2^{\circ-}$, les RO_2° et l'oxygène singulet (1O_2), et indirecte par sa capacité à régénérer le radical α -tocophéroxyl (TO°) sous sa forme réduite (TOH) (116). Présente dans le cytosol et le liquide extracellulaire (69), la vitamine C prévient l'endommagement cellulaire. A forte concentration (~ 1 mM), elle peut agir comme prooxydant en présence de métaux de transitions tels que les ions Fe^{3+} et Cu^{2+} (53,168) et initier la production de OH° à partir de la réaction de Fenton.

L'effet pharmacologique de la vitamine C sur les indices de dommages oxydatifs et cellulaires induits par l'exercice n'est étudié que depuis quelques années. Les résultats ne sont pas toujours concordants. L'apport aigu en vitamine C (1000 à 2000 mg) effectué avant un exercice de moyenne ou de longue durée, chez des sujets actifs ou entraînés, n'a pas d'effet sur les indices de peroxydation lipidique (132,154,160) et de dommages musculaires (132,154). Chez le sujet sédentaire, en revanche, un effet du traitement (1000 mg en aigu) a été observé sur les niveaux de MDA plasmatique, d'hydroperoxydes lipidiques et sur la production de R° mise en évidence par résonance électronique de spin, en réponse à une épreuve progressive et maximale réalisée sur ergocycle (9). Cette discordance de résultats pourrait résulter des caractéristiques de l'exercice réalisé, de la période d'ingestion du supplément et du statut nutritionnel initial des sujets.

La supplémentation chronique en vitamine C, à dose pharmacologique (1000 mg.j⁻¹), pendant 14 jours chez le sujet sain n'a pas d'effet sur les niveaux de base des TBARS et la capacité antioxydante totale plasmatiques (4). Les auteurs rapportent toutefois, chez les sujets supplémentés, une moindre augmentation du niveau des TBARS plasmatique en réponse à un exercice d'intensité sous-maximale (80% de) de 30 minutes réalisé sur tapis roulant. Plus récemment, Nieman *et al.* (102) n'ont observé aucun effet d'une supplémentation en vitamine C (1500 mg.j⁻¹) pendant 7 jours chez des coureurs modérément entraînés, en niveau de base et en réponse à une épreuve d'ultraendurance, sur les indices de peroxydation lipidique (F2-isoprostanés, hydroperoxydes lipidiques) et immunitaires. Chez des coureurs à pied très entraînés, un apport combiné en vitamine C (2000 mg.j⁻¹) et en glutathion (1000 mg.j⁻¹) pendant 7 jours prévient l'augmentation du niveau de GSSG sanguin en réponse à une épreuve progressive et maximale sur tapis roulant (134). Chez le rat,

un déficit d'apport en vitamine E associé à une supplémentation en vitamine C pendant 8 à 10 semaines entraîne une augmentation significative des niveaux musculaire, hépatique et sanguin d'acide ascorbique mais ne prévient pas l'hémolyse érythrocytaire (48). Au vu de ces résultats, la supplémentation chronique en vitamine C, à doses pharmacologiques, n'aurait pas d'effet sur les indices de dommages oxydatifs. D'autre part, l'administration prolongée à doses élevées de vitamine C n'est pas sans conséquences sur l'activité pro-oxydante de cette vitamine (114). Childs *et al.* (26) ont montré qu'un apport en vitamine C (12,5 mg.kg⁻¹ de poids corporel) à la suite d'un exercice de type excentrique, ayant provoqué une réponse inflammatoire, augmentait transitoirement l'endommagement tissulaire et le stress oxydant chez l'homme. La supplémentation en vitamine C (500 mg.j⁻¹ durant 8 semaines) peut également atténuer les réponses adaptatives cellulaires (expression des protéines antioxydantes, contenu en HSP) suite à l'exercice (79). Aujourd'hui, la question de l'intérêt de la supplémentation en vitamine C chez le sportif entraîné au-delà d'un apport quotidien de 200 mg mérite raisonnablement d'être posée (127).

Vitamine E

La **vitamine E** est le terme générique utilisé pour désigner l'ensemble des tocophérols et des tocotriénols naturels (88). La vitamine E, ne pouvant être synthétisée par l'organisme humain, doit être apportée par l'alimentation (70). L' α -tocophérol (TOH) est le principal anti-oxydant liposoluble de l'organisme, capable de réagir avec les ERDO, principalement les RO₂[°] et OH[°], et d'interrompre les réactions en chaîne de la peroxydation lipidique (27). Les démonstrations de l'action synergique de l' α -tocophérol et de l'acide ascorbique sont nombreuses *in vitro* (106,144), mais le sont beaucoup moins *in vivo* (54). Ceci doit donc conduire à la prudence à l'égard d'une extrapolation de ces effets *in vivo* (63). Chez l'homme adulte, la carence vraie en vitamine E est exceptionnelle. Chez l'animal, une alimentation déprimée en vitamine E entraîne une baisse de la fluidité membranaire, une réduction de la respiration mitochondriale, des dommages musculaires, une augmentation de l'activité des R[°] et de l'hémolyse érythrocytaire (32,48). En situation d'exercice, la vulnérabilité des membranes cellulaires aux peroxydations lipidiques est accrue (35).

La supplémentation en vitamine E, à doses pharmacologiques, sur des périodes comprises entre 2 semaines et 5 mois, chez des sujets sédentaires ou entraînés, s'accompagne d'une augmentation des niveaux circulants d' α -tocophérol (35,55,61,98,103,125,146,148) et d'une diminution des indices de peroxydation lipidique en niveau de base (55,61,125,146) et/ou en situation d'exercice (35,55,98,146). Très récemment, Nieman *et al.* (103) ont évoqué le

rôle prooxydant et proinflammatoire joué par la supplémentation en vitamine E, à doses pharmacologiques (800 UI.j⁻¹ soit 537 mg.j⁻¹ durant 2 mois), chez des triathlètes très entraînés à la suite du Championnat du Monde distance Ironman d'Hawaii. D'autres auteurs ont pour leur part mis en évidence un effet pharmacologique de la supplémentation en vitamine E sur les indices enzymatiques de dommages musculaires. Après 5 mois de supplémentation (330 mg.j⁻¹) et d'entraînement intensif, Rokitzki *et al.* (125) ont rapporté une baisse significative de l'activité de la CK totale sérique chez des cyclistes professionnels. De même, en réponse à une phase de surcharge de l'entraînement en course à pied sur 6 jours (48,3 ± 5,7 km.j⁻¹), Itoh *et al.* (61) ont observé une moindre augmentation de l'activité de la CK totale sérique chez des sujets modérément entraînés et supplémentés (1200 UI.j⁻¹, soit environ 805 mg.j⁻¹) pendant 5 semaines. Il a également été mis en évidence que 48 jours de supplémentation en vitamine E (400 UI.j⁻¹, soit environ 268,5 mg.j⁻¹), chez des sujets sédentaires, diminuaient la libération de CK totale plasmatique en réponse à une course en descente (20). Les niveaux pics d'activité de la CK totale plasmatique, observés en post-exercice, étaient positivement corrélés aux concentrations d'O₂^{-°} libérés des neutrophiles. Cette relation conforte ainsi l'hypothèse selon laquelle les neutrophiles seraient impliqués dans le mécanisme secondaire d'endommagement membranaire. D'autre part, Hartmann *et al.* (55) ont rapporté chez des sujets sédentaires, supplémentés en vitamine E (1200 mg.j⁻¹) pendant 14 jours, un effet du traitement sur l'endommagement de l'ADN leucocytaire en réponse à un exercice progressif et maximal réalisé sur tapis roulant.

La supplémentation en vitamine E, à doses pharmacologiques, semble jouer un rôle protecteur contre les dommages oxydatifs et musculaires induits par l'exercice aigu et/ou chronique chez les sujets les moins adaptés. Le rôle prooxydant joué par la supplémentation en vitamine E, à doses pharmacologiques, chez les sportifs très entraînés, ne peut être aujourd'hui ignoré.

Les Caroténoïdes

Les caroténoïdes, pigments végétaux dont plus de 700 ont été caractérisés, font parti du système de défense antioxydant exogène au même titre que les vitamines C et E. Ils bloquent la chaîne de réactions radicalaires (168) en empêchant l'initiation de réactions radicalaires par neutralisation de l'oxygène singulet (¹O₂) (12). Le **β-carotène**, localisé dans la partie profonde de la membrane, compléterait efficacement le rôle antioxydant de la vitamine E (106).

Une supplémentation en β-carotène (30 mg.j⁻¹) pendant 1 mois, chez le sujet sédentaire,

provoque une augmentation significative du niveau circulant, mais n'a pas d'effet sur les indices d'endommagement de l'ADN urinaire en réponse à un exercice progressif et maximal réalisé sur ergocycle (147). A notre connaissance, aucune étude menée chez le sportif ne s'est intéressée aux effets d'une supplémentation en b-carotène isolée sur le processus d'endommagement oxydatif.

Les Phytonutriments

Les **phytonutriments** ne sont ni des vitamines, ni des minéraux mais on les retrouve naturellement dans les végétaux. Plusieurs centaines de types de phytonutriments ont déjà été découverts. Ils sont reconnus pour être des antioxydants puissants. Les études *in vitro* et *in vivo* démontre clairement que l'apport en phytonutriments présente un intérêt certain au regard de différents types de maladies, cancers et du vieillissement (74). Parmi les phytonutriments les plus connus on peut citer les composés phénoliques (ou polyphénols) comprenant les flavonoïdes (anthocyanes, anthocyanidins, isoflavonoïdes, flavonoles, flavones...), les acides phénoliques (fêrulique, acide caféique, acide coumarique, acide ellagique, acide gallique), les tanins (catéchines) ; les terpènes comprenant les caroténoïdes (bêta carotène, alpha carotène, cryptoxanthine, zéaxanthine, lycopène, lutéine ...), les limonoïdes (limonin, nomilin, d limonine) ; et les composés soufrés comprenant les composés organosulfurés et isothiocyanates. Les flavonoïdes possèdent des propriétés biologiques très variées allant de l'inhibition de l'activité des enzymes de l'inflammation (lipoxygénase, cyclooxygénase, xanthine oxidase, NADH-oxidase, phospholipase A2) aux activités anti-tumorales, anti-virales, anti-mutagènes, anti-inflammatoires, anti-ischémiques et anti-allergiques (21). La plupart des effets biologiques présentés résulteraient du rôle antioxydant des phytonutriments (130,135) joué contre les radicaux peroxydes, hydroxyles, superoxydes et peroxydes d'hydrogène (21). Les catéchines, pour leur part, ont des propriétés amphipathiques qui leur permettent d'exercer leur activité antioxydante à la fois en milieu lipophile et aqueux (130). En inhibant la peroxydation lipidique, les catéchines préviennent la déplétion de vitamine E et de b-carotène dans le plasma humain, et ceci de manière dose-dépendante (85).

Oligoéléments antioxydants

Le Sélénium

Le **sélénium** est cofacteur de la GSH-Px. Chez l'homme, il est présent sous forme de sélénocystéine au niveau du site actif de la GSH-Px, et participe indirectement à la lutte contre

le stress oxydant par la neutralisation des R° et le maintien de l'intégrité des membranes cellulaires.

Une carence en sélénium par insuffisance d'apport ou par perte sudorale élevée entraîne une déplétion en GSH-Px dans tous les tissus (18), avec une diminution de l'activité hépatique et musculaire (73). Parallèlement, la peroxydation lipidique post-exercice est plus importante dans le secteur mitochondrial des muscles sollicités.

Chez l'animal, un apport en sélénium permet d'augmenter l'activité de la GSH-Px musculaire, hépatique et érythrocytaire, diminue en revanche l'activité de la GR et de la G6PDH hépatique et ne semble pas atténuer l'élévation du niveau des peroxydations lipidiques provoquée par un exercice de nage épuisant (16).

Chez des nageurs de haut niveau, un apport complémentaire en sélénium de 100 µg.j⁻¹ pendant 14 jours entraîne une diminution du niveau des peroxydations lipidiques (MDA) et une augmentation des groupements -SH, non protéiques, au niveau cellulaire (36). Il semblerait qu'un haut niveau de sollicitations physiologiques chroniques puisse être à l'origine d'un déficit relatif en sélénium et en GSH-Px, justifiant un apport de sélénium en cours de saison (1). Chez des sujets initialement sédentaires, un apport complémentaire en sélénium de 180 µg.j⁻¹ pendant 10 semaines associé à un entraînement en endurance provoque une augmentation de l'activité de la GSH-Px plasmatique (152) sans qu'il n'y ait toutefois d'interaction supplémentation et entraînement en endurance pour l'activité de la GSH-Px érythrocytaire.

De nombreux travaux ont été consacrés à la comparaison des effets du sélénium et de la vitamine E ou à leur association. Chez l'animal, la supplémentation en sélénium seul n'est pas souvent accompagné des effets protecteurs attendus contre le stress oxydant et les peroxydations lipidiques en situation d'exercice et/ou d'entraînement (16,120). Ces effets apparaissent lorsque cette supplémentation est associée à un apport en vitamine E, dont les effets synergiques sont bien établis.

Cuivre, Zinc, Manganèse

in vivo, le cuivre est transporté à l'état cuivrique par l'albumine, la céruloplasmine, ou d'autres métalloprotéines telles que la SOD (Cu-Zn-SOD). Le zinc est également un élément constitutif de cette enzyme. Par l'intermédiaire de cette dernière, le cuivre et le zinc ont des propriétés antioxydantes (29). Le zinc ne semble pas jouer de rôle dans la synthèse de la Cu-Zn-SOD mais interviendrait dans le maintien de sa conformation (29). Une forte consom-

mation en zinc altère la rétention du cuivre et diminue l'activité de cette enzyme antioxydante (87). Le manganèse est un oligoélément antioxydant par l'intermédiaire de la SOD à manganèse (Mn-SOD) localisée dans les mitochondries. Une baisse du taux de manganèse entraînerait une régulation négative de la SOD au niveau pré-transcriptionnel (15).

Supplémentation en complexe micronutritionnel chez le sportif

En raison de leur complémentarité et de leur synergie d'action, les vitamines (C, E), éléments traces (sélénium, zinc, cuivre, manganèse) et phytonutriments aux caractéristiques antioxydantes, ont fait l'objet d'élaboration de nombreux complexes micronutritionnels. Leurs effets, sur les indices de dommages oxydatifs et musculaires, ont été étudié à la fois chez les sujets entraînés et les sujets sédentaires en situation d'exercice aigu ou chronique. Les résultats ne sont pas toujours concordants. L'apport combiné en α -tocophérol (500 à 600 mg.j⁻¹), acide ascorbique (1000 mg.j⁻¹) et β -carotène (30 à 32 mg.j⁻¹), pendant 4 à 12 semaines, s'accompagne d'une diminution significative des indices de peroxydation lipidique au repos à la fois chez des sujets sédentaires (78) et des basketteurs professionnels en période de compétition intensive (137), d'un renforcement du système antioxydant au niveau des neutrophiles chez des sportifs s'entraînant en moyenne 14 heures par semaine (150) et d'une préservation du statut antioxydant chez des athlètes en réponse à une période d'entraînement et de compétitions (2). Chez des cyclistes très entraînés, un apport combiné en vitamine E, sélénium, GSH et cystéine pendant 3 semaines induit une diminution significative du niveau de MDA associée à une augmentation du GSH (37). Un apport combiné en α -tocophérol (13,5 mg.j⁻¹) et en coenzyme Q10 (90 mg.j⁻¹) pendant 3 semaines, chez des coureurs à pied modérément entraînés, induit une diminution de la susceptibilité des VLDL et LDL à être oxydés associée à une augmentation significative des niveaux de base d' α -tocophérol et de coenzyme Q10 plasmatiques (76).

La supplémentation micronutritionnelle antioxydante n'est pas toujours accompagnée d'effet sur les dommages oxydatifs. Une combinaison en α -tocophérol (294 mg.j⁻¹), acide ascorbique (1000 mg.j⁻¹) et ubiquinone (30 mg.j⁻¹) administrée pendant 4 semaines, à des coureurs à pied très entraînés, ne provoque pas de modification du niveau de base des diènes conjugués dans le sérum et les LDL malgré l'augmentation du statut antioxydant total dans ces compartiments et du niveau d' α -tocophérol sérique (159). D'autre part, aucun effet du traitement n'est observé sur ces mêmes indices de peroxydation lipidique en réponse à une épreuve de course à pied de 31 km. Un apport combiné en α -tocophérol (400 UI.j⁻¹, soit environ 268,5 mg.j⁻¹) et acide ascorbique (200 mg.j⁻¹) pendant 4,5 semaines chez des

coureurs à pied entraînés n'a pas eu d'effet sur le processus de peroxydation lipidique en situation de base et en réponse à un marathon (126). Cette supplémentation permettait toutefois de diminuer l'augmentation du niveau de CK totale sérique 24 heures après l'épreuve. Des effets similaires ont été observés chez des triathlètes supplémentés en sélénium ($150 \mu\text{g}\cdot\text{j}^{-1}$), acide ascorbique ($120 \text{mg}\cdot\text{j}^{-1}$) et α -tocophérol ($20 \text{mg}\cdot\text{j}^{-1}$) en phase d'entraînement normal et de surcharge en réponse à une épreuve de duathlon (111). Une étude menée en crossing-over (α -tocophérol : 500 ou 1000 UI $\cdot\text{j}^{-1}$, soit environ 335 ou 670 $\text{mg}\cdot\text{j}^{-1}$; acide ascorbique : 500 ou 1000 $\text{mg}\cdot\text{j}^{-1}$) chez des coureurs à pied, pendant 4 semaines, n'a pu observer d'effet ni sur les indices de dommages musculaires ni sur les niveaux de MDA plasmatique en niveau de base ou en réponse à un semi-marathon (33).

Il est impossible de dégager une logique permettant d'identifier les facteurs inducteurs d'effets, tels que la posologie, le type d'association ou encore la durée du traitement, en relation avec le statut initial et/ou l'état physiologique du sujet. Ceci est dû à la disparité des procédures expérimentales utilisées (exercice aigu ou chronique, exercice aigu de courte, moyenne ou de longue durée ; avec ou sans groupe témoin ; contrôle ou pas du statut nutritionnel...) et aux caractéristiques des indices de dommages oxydatifs et musculaires retenus. D'autre part, à ce jour, aucune preuve scientifique sérieuse ne permet de valider une amélioration de la capacité de performance suite à la prise d'une supplémentation antioxydante.

Conclusions

Il est classiquement admis que le sportif, et en particulier spécialiste des activités d'endurance, est un sujet potentiellement à risque de déficit micronutritionnel, d'une part, en raison du déséquilibre potentiel de sa balance énergétique (dépenses vs apports), et d'autre part, de la faible densité nutritionnelle de sa ration (51), justifiant ainsi une supplémentation antioxydante. A notre connaissance, aucune étude scientifique n'a encore clairement démontré cette hypothèse. En revanche, Rousseau *et al.* (127) ont rapporté, lors d'une étude analytique transversale d'observation conduite auprès de 118 sportifs entraînés, que le statut en acide ascorbique était amélioré chez les sportifs ayant la dépense énergétique la plus élevée ($>$ à 3500 kcal.j⁻¹) en raison de l'augmentation des apports alimentaires en vitamine C. Ce résultat irait à l'encontre des hypothèses formulées. D'autre part, les auteurs ont observé une absence de relation entre les apports en vitamine E des sportifs entraînés et leurs niveaux de TBARS plasmatiques, malgré des apports nutritionnels en vitamine E inférieurs aux 2/3 des apports nutritionnels conseillés pour la population sportive (51) et ceci chez 81% d'entre eux. Ces dernières observations nous interrogent sur le bien fondé des nouvelles recommandations nutritionnelles proposées pour le sportif.

Aujourd'hui, la consommation d'une alimentation riche en fruits et légumes, source d'antioxydants, doit être une règle pour le sportif. L'ingestion de suppléments alimentaires ne peut être considéré comme un geste anodin, même à de faibles doses. La supplémentation ne "mime" pas une prise alimentaire. Un fruit riche en vitamine C n'apporte pas uniquement de la vitamine C. Les exemples de synergies d'actions sont nombreux, l'alimentation est un équilibre dynamique, la prise d'un supplément peut le rompre, momentanément parfois, elle ne doit pas être évitée à tous prix notamment en cas de déficit nutritionnel avéré, mais raisonnée. D'autre part, les variations individuelles d'apports et de statut antioxydants observés chez le sportif entraîné (127) doivent encourager à individualiser les recommandations nutritionnelles. Outre les habitudes alimentaires et la pratique d'une activité physique, le style de vie (consommation d'alcool, de cigarettes, exposition à des stress environnementaux tels que les polluants de l'air, les UV), les dispositions génétiques (déterminant de l'expression des protéines antioxydante) et l'âge influencent fortement le stress oxydant. Il est par conséquent fondamental de tenir compte de ces différents éléments afin de déterminer les besoins individuels d'une population.

En l'état actuel des connaissances, la nécessité d'une supplémentation antioxydante chez le sportif ne présentant pas de déficit nutritionnel ne peut donc être affirmée. Si la consommation d'une supplémentation antioxydante à doses modérées ne semble pas être préjudiciable pour le sportif, en revanche, la consommation d'antioxydants à doses élevées peut être néfaste. Par exemple, l'augmentation du statut antioxydant cellulaire à la suite d'une supplémentation antioxydante peut atténuer la réponse inflammatoire au niveau des muscles sollicités par l'exercice, et ainsi limiter la vitesse de régénération du muscle (155). D'autre part, différentes études ont montré que la supplémentation antioxydante diminue l'activité des enzymes antioxydantes au niveau extracellulaire et cellulaire au cours de l'exercice (121). Ces résultats indiquent que la supplémentation antioxydante à doses élevées altère à la fois l'équilibre rédox cellulaire, en rendant l'élévation de l'activité des enzymes antioxydantes endogènes inutile, et le processus adaptatif cellulaire consécutif à l'exercice (79). Il est bien établi que le stress oxydant induit par l'exercice physique régule le signal de transduction des gènes transcrits, tels que les HSP et les antioxydants endogènes (138), et donc le processus adaptatif cellulaire. En revanche, le niveau de stress oxydant à partir duquel le bénéfice adaptatif serait diminué n'est pas encore connu.

Il n'est pas toujours aisé d'interpréter les valeurs des paramètres circulants. Aujourd'hui, il n'existe pas de normes biologiques du sportif au regard des paramètres du stress oxydant et du potentiel antioxydant. Les indices biologiques du potentiel antioxydant ne sont pas toujours représentatifs d'un déficit d'apports nutritionnels. A l'exercice, la diminution des concentrations plasmatiques en antioxydants traduit davantage une redistribution des réserves antioxydantes entre les tissus et le plasma (69) plutôt qu'un déficit nutritionnel. De plus, le statut rédox plasmatique ne reflète pas nécessairement le statut rédox cellulaire (118).

Chez le sportif entraîné, il n'existe pas de réponse concomitante des indices du potentiel antioxydant en réponse à un stimulus d'entraînement particulier. Le statut circulant des paramètres du système antioxydant de repos du sportif ne donne que peu d'indications sur les réelles capacités de protection à l'exercice ([Figure 5](#)). Il a été observé que les effets de facteurs exogènes, tels que ceux liés la nutrition et/ou à l'entraînement, s'observent le plus souvent en situation d'exercice, sans effet sur les niveaux de repos (90,110,111). Cette approche est très spécifique du sujet entraîné. Ainsi, les indicateurs biologiques doivent être considérés en complément d'enquêtes alimentaires et d'activités rigoureuses.

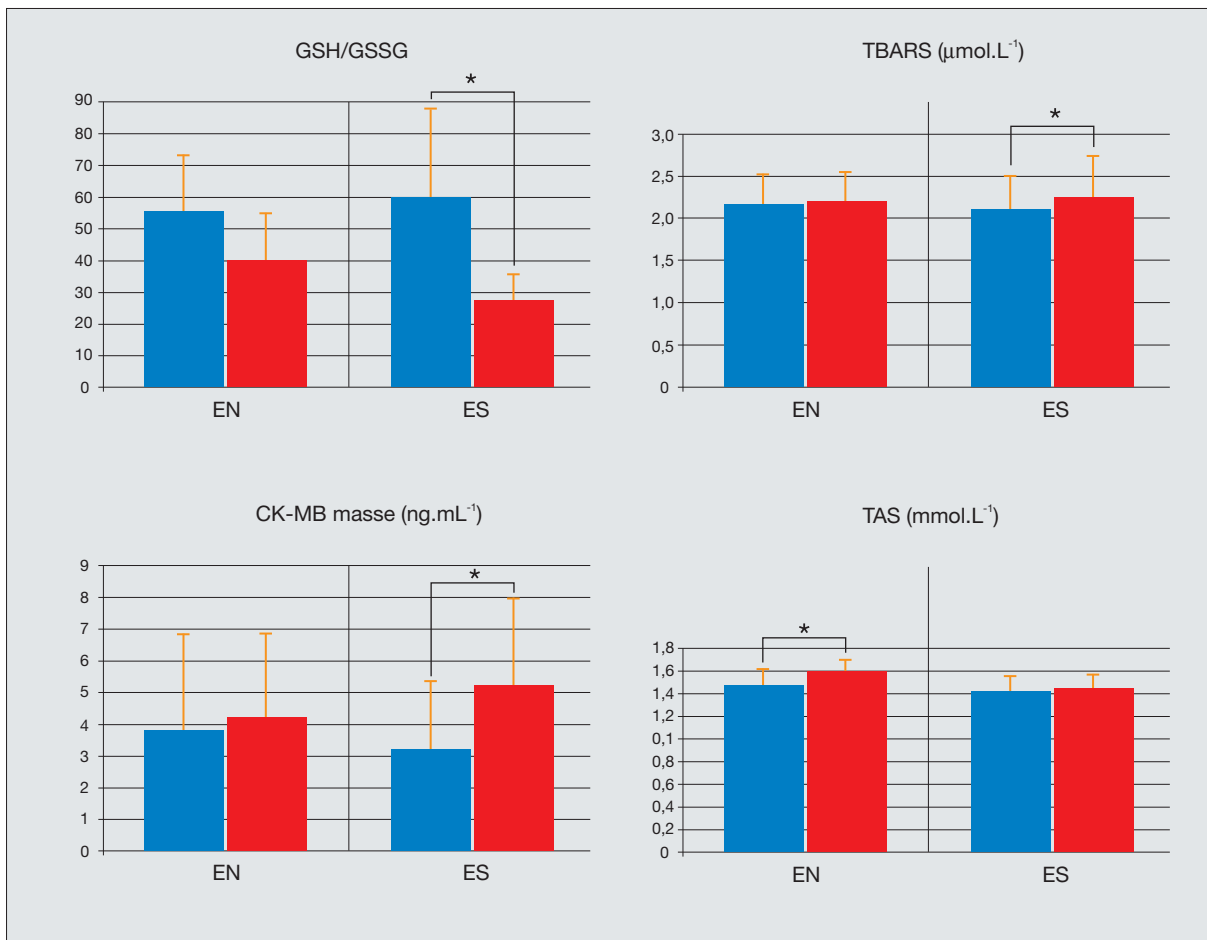


Figure 5 Indices du stress oxydant (GSH:GSSG dans le sang total), de peroxydation lipidique (TBARS plasmatique), de dommages musculaires (CK-MB masse plasmatique) et du potentiel antioxydant (TAS plasmatique) chez des triathlètes ($n = 9$) en pré- (■) et post-duathlon (■) après les phases d'entraînement normale (EN) et de surcharge (ES). ANOVA : effet d'interaction (Entraînement x Duathlon). * $P < 0,05$: Différence significative entre pré- et post-duathlon.

Bibliographie

- (1) Accominotti, M., Dutey, P., Lahey, C., & Vallon, J.J. (1991) Evolution des taux de sélénium et de glutathion peroxydase sanguins de sportifs de haut niveau. *Sci. Sports*, 6, 165-172.
- (2) Aguilo, A., Tauler, P., Fuentespina, E., Villa, G., Cordova, A., Tur, J.A., & Pons, A. (2004) Antioxidant diet supplementation influences blood iron status in endurance athletes. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.*, 14, 147-160.
- (3) Alessio, H.M. (1993) Exercise-induced oxidative stress. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 25, 218-224.
- (4) Alessio, H.M., Goldfarb, A.H., & Cao, G. (1997) Exercice-induced oxidative stress before and after vitamin C supplementation. *Int. J. Sport Nutr.*, 7, 1-9.
- (5) 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. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 32, 1576-1581.
- (6) Almar, M., Villa, J.G., Cuevas, M.J., Rodriguez-Marroyo, J.A., Avila, C., & Gonzalez-Gallego, J. (2002) Urinary levels of 8-hydroxydeoxyguanosine as a marker of oxidative damage in road cycling. *Free Radic. Res.*, 36, 247-253.
- (7) Anuradha, C.V., & Balakrishnan, S.D. (1998) Increased lipoprotein susceptibility to oxidation following long distance running in trained subjects. *Clin. Chim. Acta*, 271, 97-106.
- (8) Ashton, T., Rowlands, C.C., Jones, E., Young, I.S., Jackson, S.K., Davies, B., & Peters, J.R. (1998) Electron spin resonance spectroscopic detection of oxygen-centred radicals in human serum following exhaustive exercise. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 77, 498-502.
- (9) Ashton, T., Young, I.S., Peters, J.R., Jones, E., Jackson, S.K., Davies, B., & Rowlands, C.C. (1999) Electron spin resonance spectroscopy, exercise, and oxidative stress: an ascorbic acid intervention study. *J. Appl. Physiol.*, 87, 2032-2036.
- (10) Balakrishnan, D.S., & Anuradha, C.V. (1998) Exercise, depletion of antioxidants and antioxidant manipulation. *Cell. Biochem. Funct.*, 16, 269-275.
- (11) Bartosz, G., Tannert, C., Fried, R., & Leyko, W. (1978) Superoxide dismutase during erythrocyte aging. *Experientia*, 34, 1464.
- (12) Bastl, A., Haenen, G.R.M.M., Van den Berg, R., & Van den Berg, H. (1998) Antioxidant effects of carotenoids. *Int. J. Vit. Nutr. Res.*, 68, 399-403.

- (13) Bejma, J., & Ji, L.L. (1999) Aging and acute exercise enhance free radical generation in rat skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.*, 87, 465-470.
- (14) Beutler, E., & Luzzatto, L. (1999) Hemolytic anemia. *Semin. Hematol.*, 36, 38-47.
- (15) Borello, S., DeLeo, M.E., & Galeotti, T. (1992) Transcriptional regulation of Mn SOD by manganese in the liver of manganese deficient mice and during rat development. *Biochem. Int.*, 28, 595-601.
- (16) Brady, P.S., Brady, L.J., & Ullrey, D.E. (1979) Selenium, vitamin E and the response to swimming stress in the rat. *J. Nutr.*, 109, 1103-1109.
- (17) Bray, T.M., & Taylor, C.G. (1993) Tissue glutathione, nutrition, and oxidative stress. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 71, 746-751.
- (18) Burk, R.F. (1983) Biological activity of selenium. *Annu. Rev. Nutr.*, 3, 53-70.
- (19) Camus, G., Deby-Dupont, G., Deby, C., Juchmes-Ferir, A., Pincemail, J., & Lamy, M. (1993) Inflammatory response to strenuous muscular exercise in man. *Mediators of inflammation*, 2, 335-342.
- (20) Cannon, J.G., Orencole, S.F., Fielding, R.A., Meydani, M., Meydani, S.N., Fiatarone, M.A., Blumberg, J.B., & Evans, W.J. (1990) Acute phase response in exercise: interaction of age and vitamin E on neutrophils and muscle enzyme release. *Am. J. Physiol.*, 259, R1214-R1219.
- (21) Cao, G., Sofic, E., & Prior, R.L. (1997) Antioxidant and prooxidant behaviour of flavonoids: Structure-activity relationships. *Free Rad. Biol. Med.*, 22, 749-760.
- (22) Cesquini, M., Torsoni, M.A., & Ogo, S.H. (1999) Adaptive response to swimming exercise: antioxidant systems and lipid peroxidation. *J. Anti-Aging Med.*, 2, 1999.
- (23) Chao, W.H., Askew, E.W., Roberts, D.E., Wood, S.M., & Perkins, J.B. (1999) Oxidative stress in human during work at moderate altitude. *J. Nutr.*, 129, 2009-2012.
- (24) Chen, J.J., & Yu, B.P. (1994) Alterations in mitochondrial membrane fluidity by lipid peroxidation products. *Free Radic. Biol. Med.*, 17, 411-418.
- (25) Child, R.B., Wilkinson, D.M., Fallowfield, J.L., & Donnelly, A.E. (1998) Elevated serum antioxidant capacity and plasma malondialdehyde concentration in response to a simulated half-marathon run. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 30, 1603-1607.
- (26) Childs, A., Jacobs, C., Kaminski, T., Halliwell, B., & Leeuwenburgh, C. (2001) Supplementation with vitamin C and N-acetyl-cysteine increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise. *Free Radic. Biol. Med.*, 31, 745-753.

- (27) Chow, C.K. (1988) Interrelationships of cellular antioxidant defense systems. *Cellular antioxidant defense mechanisms*, 2, 217-237.
- (28) Corbucci, G.G., Montanari, G., Cooper, M.B., Jones, D.A., & Edwards, R.H.T. (1984) The effect of exertion on mitochondrial oxidative capacity and on some antioxidant mechanisms in muscle from marathon runners. *Int. J. Sports Med.*, 5, S135.
- (29) Coudray, C., Richard, M.J., Laporte, F., Faure, P., Roussel, A.M., & Favier, A. (1992) Superoxide dismutase activity and zinc status: a study in animals and man. *J. Nutr. Med.*, 3, 13-26.
- (30) Criswell, D., Powers, S., Dodd, S., Lawler, J., Edwards, W., Renshler, K., & Grinton, S. (1993) High intensity training-induced changes in skeletal muscle antioxidant enzyme activity. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 25, 1135-1140.
- (31) Davies, K.J.A. (1995) Oxidative stress: the paradox of aerobic life. *Biochem. Soc. Symp.*, 61, 1-31.
- (32) Davies, K.J.A., Quintanilha, A.T., Brooks, G.A., & Packer, L. (1982) Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biomed. Biophys. Res. Commun.*, 107, 1198-1205.
- (33) Dawson, B., Henry, G.J., Goodman, C., Gillam, I., Beilby, J.R., Ching, S., Fabian, V., Dasig, D., Morling, P., & Kakulus, B.A. (2002) Effect of vitamin C and E supplementation on biochemical and ultrastructural indices of muscle damage after a 21 km run. *Int. J. Sports Med.*, 23, 10-15.
- (34) Dernbach, A.R., Sherman, W.M., Simonsen, J.C., Flowers, K.M., & Lamb, D.R. (1993) No evidence of oxidant stress during high-intensity rowing training. *J. Appl. Physiol.*, 74, 2140-2145.
- (35) Dillard, C.J., Litov, R.E., Savin, W.M., Dumelin, E.E., & Tappel, A.L. (1978) Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. *J. Appl. Physiol.*, 45, 927-932.
- (36) Dragan, I., Dinu, V., Mohora, M., Cristea, E., Ploesteanu, E., & Stroescu, V. (1990) Studies regarding antioxidant effects of selenium on top swimmers. *Rev. Roum. Physiol.*, 27, 15-20.
- (37) Dragan, I., Dinu, V., Cristea, E., Mohora, M., Ploesteanu, E., & Stroescu, V. (1991) Studies regarding the effects of an antioxidant compound in top athletes. *Rev. Roum. Physiol.*, 28, 105-108.

(38) Dufaux, B., & Order, U. (1989) Plasma elastase-alpha1-antitrypsin, neopterin, tumor necrosis factor, and soluble interleukin-2 receptor after prolonged exercise. *Int. J. Sports Med.*, 10, 434-438.

(39) Duthie, G.G., Robertson, J.D., Maughan, R.J., & Morrice, P.C. (1990) Blood antioxidant status and erythrocyte lipid peroxidation following distance running. *Arch. Biochem. Biophys.*, 282, 78-83.

(40) Duthie, G.G. (1996) Adaptations of the antioxidant defence systems to chronic exercises. *Med. Sport Sci.*, 41, 95-101.

(41) Esterbauer, H., Schaur, R.J., & Zollner, H. (1991) Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic. Biol. Med.*, 11, 81-128.

(42) Evelo, C.T.A., Palmen, N.G.M., Artur, Y., & Janssen, G.M.E. (1992) Changes in blood glutathione concentrations, and in erythrocyte glutathione reductase and glutathione S-transferase activity after running training and after participation in contests. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 64, 354-358.

(43) Fairbairn, D.W., Olive, P.L., & O'Neill K.L. (1995) The comet assay: a comprehensive review. *Mutat. Res.*, 339, 37-59.

(44) Favier, A. (1997) Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann. Biol. Clin.*, 55, 9-16.

(45) Fry, R.W., Morton, A.R., & Keast, D. (1991) Overtraining in athletes: an update. *Sports Med.*, 12, 32-65.

(46) Gambelunghe, C., Rossi, R., Micheletti, A., Mariucci, G., & Rufini, S. (2001) Physical exercise intensity can be related to plasma glutathione levels. *J. Physiol. Biochem.*, 57, 9-14.

(47) Godin, D.V., & Wohaiieb, S.A. (1988) Nutritional deficiency, starvation, and tissue antioxidant status. *Free Radic. Biol. Med.*, 5, 165-176.

(48) Gohil, K., Packer, L., De Lumen, B., Brooks, G.A., & Terblanche, S.E. (1986) Vitamin E deficiency and vitamin C supplements: exercise and mitochondrial oxidation. *J. Appl. Physiol.*, 60, 1986-1991.

(49) Groussard, C., Machefer, G., Rannou, F., Faure, H., Zouhal, H., Sergent, O., Chevanne, M., Cillard, J., & Gratas-Delamarche, A. (2003) Physical fitness and plasma non-enzymatic antioxidant status at rest and after a wingate test. *Can. J. Appl. Physiol.*, 28, 79-92.

(50) Guichardant, M., Valette-Talbi, L., Cavadini, C., Crozier, G., & Berger, M. (1994) Malondialdehyde measurement in urine. *J. Chromatogr. B. Biomed. Appl.*, 655, 112-116.

- (51) Guillaud, J.C., Margaritis, I., Melin, B., Pérès, G., Richalet, J.P., & Sabatier, P.P. (2001) Sportifs et sujets à activité physique intense. In: Apports nutritionnels conseillés pour la population française. 3ème édition, Editions Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 337-394.
- (52) Halliwell, B., & Chirico, S. (1993) Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am. J. Clin. Nutr.*, 57, S715-S725.
- (53) Halliwell, B., & Gutteridge, J.M.C. (1999) Free radicals in biology and medicine. In: Halliwell B., Gutteridge, J.M.C, eds, 1-543.
- (54) Hamilton, I.M.J., Gilmore, W.S., Benzie, I.F.F., Mulholland, C.W., & Strain, J.J. (2000) Interactions between vitamins C and E in human subjects. *Br. J. Nutr.*, 84, 261-267.
- (55) Hartmann, A., Nieb, A.M., Grünert-Fuchs, M., Poch, B., & Speit, G. (1995) Vitamin E prevents exercise-induced DNA damage. *Mutat. Res.*, 346, 195-202.
- (56) Hartmann, A., Pfuhrer, S., Dennog, C., Germadnik, D., Pilger, A., & Speit, G. (1998) Exercise-induced DNA effects in human leukocytes are not accompanied by increased formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine or induction of micronuclei. *Free Radic. Biol. Med.*, 24, 245-251.
- (57) Hellsten, Y., Apple, F.S., & Sjodin, B. (1996) Effect of sprint cycle training on activities of antioxidant enzymes in human skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.*, 81, 1484-1487.
- (58) Hessel, E., Haberland, A., Müller, M., Lerche, D., & Schimke, I. (2000) Oxygen radical generation of neutrophils: a reason for oxidative stress during marathon running? *Clin. Chim. Acta*, 298, 145-156.
- (59) Higuchi, M., Cartier, L.J., Chen, M., & Holloszy, J.O. (1985) Superoxide dismutase and catalase in skeletal muscle: adaptive response to exercise. *J. Gerontol.*, 40, 281-286.
- (60) Hollander, J., Fiebig, R., Gore, M., Bejma, J., Ookawara, T., Ohno, H., & Ji, L.L. (1999) Superoxide dismutase gene expression in skeletal muscle: fiber-specific adaptation to endurance training. *Am. J. Physiol.*, 277, R856-R862.
- (61) Itoh, H., Ohkuwa, Y., Shimoda, T., Wakayama, A., Tamura, S., Yamamoto, T., Sato, Y., & Miyamura, M. (2000) Vitamin E supplementation attenuates leakage of enzymes following 6 successive days of running training. *Int. J. Sports Med.*, 21, 369-374.
- (62) Jackson, M.J. (1990) Free radicals and skeletal muscle disorders. In: Das DK, Essman WB, eds. *Oxygen radicals, systemic events and disease processes*. New-York: Karger, 149-171.
- (63) Jacob, R.A. (1995) The integrated antioxidant system. *Nutr. Res.*, 15, 755-766.

- (64) Jaeschke, H. (1995) Mechanisms of oxidant stress-induced acute tissue injury. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 209, 104-111.
- (65) Jenkins, R.R. (1988) Free radical chemistry: relationship to exercise. *Sports Med.*, 5, 156-170.
- (66) Jenkins, R.R., Friedland, R., & Howald, H. (1984) The relationship of oxygen uptake to superoxide dismutase and catalase activity in human skeletal muscle. *Int. J. Sports Med.*, 5, 11-14.
- (67) Jenkins, R.R., Krause, K., & Schofield, L.S. (1993) Influence of exercise on clearance of oxidant stress products and loosely bound iron. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 25, 213-217.
- (68) Ji, L.L. (1993) Antioxidant enzyme response to exercise and aging. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 25, 225-231.
- (69) Ji, L.L. (1995) Exercise and oxidative stress: role of the cellular antioxidant systems. *Exerc. Sport Sci. Rev.*, 23, 135-166.
- (70) Ji, L.L. (1999) Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 222, 283-292.
- (71) Ji, L.L., & Fu, R. (1992) Responses of glutathione system and antioxidant enzymes to exhaustive exercise and hydroperoxide. *J. Appl. Physiol.*, 72, 549-554.
- (72) Ji, L.L., Fu, R., & Mitchell, E.W. (1992) Glutathione and antioxidant enzymes in skeletal muscle: effects of fiber type and exercise intensity. *J. Appl. Physiol.*, 73, 1854-1859.
- (73) Ji, L.L., Stratman, F.W., & Lardy, H.A. (1988) Antioxidant enzyme systems in rat liver and skeletal muscle. Influences of selenium deficiency, chronic training, and acute exercise. *Arch. Biochem. Biophys.*, 263, 150-160.
- (74) Ji, L.L., & Peterson, D.M. (2004) Aging, exercise, and phytochemicals: Promises and pitfalls. *Ann. NY. Acad. Sci.*, 1019, 453-461.
- (75) Jiang, Z.Y., Hunt, J.V., & Wolff, S.P. (1992) Ferrous ion oxidation in the presence of xylenol orange for detection of lipid hydroperoxide in low density lipoprotein. *Anal. Biochem.*, 202, 384-389.
- (76) Kaikkonen, J., Kosonen, L., Nyysönen, K., Porkkala-Sarataho, E., Salonen, R., Korpela, H., & Salonen, J.T. (1998) Effect of combined coenzyme Q10 and d-alpha-tocopheryl acetate supplementation on exercise-induced lipid peroxidation and muscular damage: a placebo-controlled double-blind study in marathon runners. *Free Rad. Res.*, 29, 85-92.

- (77) Kanter, M.M., Lesmes, G.R., Kaminsky, L.A., La Ham-Saeger, J., & Nequin, N.D. (1988) Serum creatine kinase and lactate dehydrogenase changes following an eighty kilometer race. Relationship to lipid peroxidation. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 57, 60-63.
- (78) Kanter, M.M., Nolte, L.A., & Holloszy, J.O. (1993) Effects of an antioxidant vitamin mixture on lipid peroxidation at rest and postexercise. *J. Appl. Physiol.*, 74, 965-969.
- (79) Khassaf, M., McArdle, A., Esanu, C., Vasilaki, A., McArdle, F., Griffiths, R.D., Brodie, D.A., & Jackson, M.J. (2003) Effect of vitamin C supplements on antioxidant defence and stress proteins in human lymphocytes and skeletal muscle. *J. Physiol.*, 549, 645-652.
- (80) Kretzschmar, M., Müller, D., Hübscher, J., Marin, E., & Klinger, W. (1991) Influence of aging, training and acute physical exercise on plasma glutathione and lipid peroxides in man. *Int. J. Sports Med.*, 12, 218-222.
- (81) Laaksonen, D.E., Atalay, M., Niskanen, L., Uusitupa, M., Hänninen, O., & Sen, C.K. (1999) Blood glutathione homeostasis as a determinant of resting and exercise-induced oxidative stress in young men. *Redox Report.*, 4, 53-59.
- (82) Laughlin, M.H., Simpson, T., Sexton, W.L., Brown, O.R., Smith, J.K., & Korthuis, R.J. (1990) Skeletal muscle oxidative capacity, antioxidant enzymes, and exercise training. *J. Appl. Physiol.*, 68, 2337-2343.
- (83) Leeuwenburgh, C., Hollander, J., Leichtweis, S., Griffiths, M., Gore, M., & Ji, L.L. (1997) Adaptations of glutathione antioxidant system to endurance training are tissue and muscle fiber specific. *Am. J. Physiol.*, 272, R363-R369.
- (84) Lew, H., & Quintanilha, A. (1991) Effects of endurance training and exercise on tissue antioxidative capacity and acetaminophen detoxification. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.*, 16, 59-68.
- (85) Lotito, S.B., & Fraga, C.G. (1999) (+)-Catechin as antioxidant: Mechanisms preventing human plasma oxidation and activity in red wines. *Biofactors*, 10, 125-130.
- (86) Lovlin, R., Cottle, W., Pyke, I., Kavanagh, M., & Belcastro, A.N. (1987) Are indices of free radical damage related to exercise intensity. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 56, 313-316.
- (87) Lukaski, H.C. (1995) Micronutrients (magnesium, zinc, and copper): are mineral supplements needed for athletes? *Int. J. Sport Nutr.*, 5, S74-S83.
- (88) Machlin, L.J., & Bendich, A. (1987) Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J.*, 1, 441-445.
- (89) Margaritis, I., Tessier, F., Richard, M.J., & Marconnet, P. (1997) No evidence of oxidative stress after a triathlon race in highly trained competitors. *Int. J. Sports Med.*, 18, 186-190.

- (90) Margaritis, I., Palazzetti, S., Rousseau, A.S., Richard, M.J., & Favier, A. (2003). Antioxidant supplementation and tapering improve exercise-induced antioxidant response. *J. Am. Coll. Nutr.*, 22, 147-156.
- (91) Marzatico, F., Pansarasa, O., Bertorelli, L., Somenzini, L., & Della Valle, G. (1997) Blood free radical antioxidant enzymes and lipid peroxides following long-distance and lactacidemic performances in highly trained aerobic and sprint athletes. *J. Sports Med. Phys. Fitness*, 37, 235-239.
- (92) Mastaloudis, A., Leonard, S.W., & Traber, M.G. (2001) Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise. *Free Radic. Biol. Med.*, 31, 911-922.
- (93) Mastaloudis, A., Tian-Wei, Y., O'Donnell, R.P., Frei, B., Dashwood, R.H., & Traber, M.G. (2004) Endurance exercise results in DNA damage as detected by the comet assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 36, 966-975.
- (94) Maughan, R.J., Donnelly, A.E., Gleeson, M., Whiting, P.H., Walker, K.A., & Clough, P.J. (1989) Delayed-onset muscle damage and lipid peroxidation in man after a downhill run. *Muscle Nerve*, 12, 332-336.
- (95) McAllister, R.M. (1998) Adaptations in control of blood flow with training: splanchnic and renal blood flows. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 30, 375-381.
- (96) Meister, A., & Anderson, M.E. (1983) Glutathione. *Ann. Rev. Biochem.*, 52, 711-760.
- (97) Mena, P., Maynar, M., Guttierrez, J.M., Maynar, J., Timon, J., & Campillo, J.E. (1991) Erythrocyte free radical scavenger enzymes in bicycle professional racers. Adaptation to training. *Int. J. Sports Med.*, 12, 563-566.
- (98) Meydani, M., Evans, W.J., Handelman, G., Biddle, L., Fielding, R.A., Meydani, S.N., Burrill, J., Fiatarone, M.A., Blumberg, J.B., & Cannon, J.G. (1993) Protective effect of vitamin E on exercise-induced oxidative damage in young and older adults. *Am. J. Physiol.*, 264, R992-R998.
- (99) Miyazaki, H., Oh-ishi, S., Ookawara, T., Kizaki, T., Toshinai, K., Ha, S., Haga, S., Ji, L.L., & Ohno, H. (2001) Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 84, 1-6.
- (100) Moran, M., Delgado, J., Gonzalez, B., Manso, R., & Megias, A. (2004) Responses of rat myocardial antioxidant defences and heat shock protein HSP72 induced by 12 and 24-week treadmill training. *Acta Physiol. Scand.*, 180, 157-166.
- (101) Morris, C.J., Earl, J.R., Trenam, C.W., & Blake, D.R. (1995) Reactive oxygen species and iron - A dangerous partnership in inflammation. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 27, 109-122.

- (102) Nieman, D.C., Henson, D.A., McAnulty, S.R., McAnulty, L.S., Swick, N.S., Utter, A.C., Vinci, D.M., Opiela, S.J., & Morrow, J.D. (2002) Influence of vitamin C supplementation on oxidative and immune changes after an ultramarathon. *J. Appl. Physiol.*, 92, 1970-1977.
- (103) Nieman, D.C., Henson, D.A., McAnulty, S.R., McAnulty, L.S., Morrow, J.D., Ahmed, A., & Heward, B. (2004) Vitamin E and immunity after the Kona Triathlon World Championship. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 36, 1328-1335.
- (104) Niess, A.M., Hartmann, A., & Grünert-Fuchs, M.P.B.S.G. (1996) DNA damage after exhaustive treadmill running in trained and untrained men. *Int. J. Sports Med.*, 17, 397-403.
- (105) Niess, A.M., Baumann, M., Roecker, K., Horstmann, T., Mayer, F., & Dickhuth, H.H. (1998) Effects of intensive endurance exercise on DNA damage in leucocytes. *J. Sports Med. Phys. Fitness*, 38, 111-115.
- (106) Niki, E., Noguchi, N., Tsuchihashi, H., & Gotoh, N. (1995) Interaction among vitamin C, vitamin E, and beta-carotene. *Am. J. Clin. Nutr.*, 62, 1322S-1326S.
- (107) Okamura, K., Doi, T., Hamada, K., Sakurai, M., Yoshioka, Y., Mitsuzono, R., Migita, T., Sumida, S., & Sugawa-Katayama, Y. (1997) Effect of repeated exercise on urinary 8-hydroxydeoxyguanosine excretion in humans. *Free Rad. Res.*, 26, 507-514.
- (108) Olive, P.L., Banàth, J.P., & Durand, R.E. (1990) Heterogeneity in radiation-induced DNA and repair in tumor and normal cells measured using the 'comet' assay. *Radiat. Res.*, 122, 86-94.
- (109) Oostenbrug, G.S., Mensink, R.P., Hardeman, M.R., De Vries, T., Brouns, F., & Hornstra, M.R. (1997) Exercise performance, red blood cell deformability, and lipid peroxidation: effects of fish oil and vitamin E. *J. Appl. Physiol.*, 83, 746-752.
- (110) Palazzetti, S., Richard, M.J., Favier, A., & Margaritis, I. (2003) Overloaded training increases exercise-induced oxidative stress and damage. *Can. J. Appl. Physiol.*, 28, 588-604.
- (111) Palazzetti, S., Rousseau, A.S., Richard, M.J., Favier, A., & Margaritis, I. (2004) Antioxidant supplementation preserves antioxidant response in physical training and low antioxidant intake. *Br. J. Nutr.*, 91, 91-100.
- (112) Pansarasa, O., D'Antona, G., Gualea, M.R., Marzani, B., Pellegrino, M.A., & Marzatico, F. (2002) "Oxidative stress": effects of mild endurance training and testosterone treatment on rat gastrocnemius muscle. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 87, 550-555.
- (113) Pincemail, J., Deby, C., & Dethier, A. (1987) Pentane measurement in man as an index of lipoperoxidation. *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 18, 117-125.

- (114) Podmore, I.D., Griffiths, H.R., Herbert, K.E., Mistry, N., Mistry, P., & Lunec, J. (1998) Vitamin C exhibits pro-oxidant properties. *Nature*, 392, 559.
- (115) Powers, S.K., Criswell, D., Lawler, J., Ji, L.L., Martin, D., Herb, R.A., & Dudley, G. (1994) Influence of exercise and fiber type on antioxidant enzyme activity in rat skeletal muscle. *Am. J. Physiol.*, 266, R375-R380.
- (116) Powers, S.K., & Hamilton, K. (1999) Antioxidants and exercise. *Clin. Sports Med.*, 18, 525-536.
- (117) Pyne, D. (1994) Regulation of neutrophil function during exercise. *Sports Med.*, 17, 245-258.
- (118) Quindry, J., Stone, W., King, J., & Broeder, C. (2003) The effects of acute exercise on neutrophils and plasma oxidative stress. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 35, 1139-1145.
- (119) Radák, Z., Kaneko, T., Tahara, S., Nakamoto, H., Ohno, H., Sasvári, M., Nyakas, C., & Goto, S. (1999) The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins, and DNA in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. *Free Radic. Biol. Med.*, 27, 69-74.
- (120) Reddy, K.V., Kumar, T.C., Prasad, M., & Reddanna, P. (1992) Exercise-induced oxidant stress in the lung tissue, role of dietary supplementation of vitamin E and selenium. *Biochem. Int.*, 26, 863-871.
- (121) Reddy, K.V., Kumar, T.C., Prasad, M., & Reddanna, P. (1998) Pulmonary lipid peroxidation and antioxidant defenses during exhaustive physical exercise: The role of vitamin E and selenium. *Nutrition*, 14, 448-451.
- (122) Richard, M.J., Guiraud, P., Meo, J., & Favier, A. (1992) High-performance liquid chromatographic separation of malondialdehyde-thiobarbituric acid adduct in biological materials (plasma and human cells) using a commercially available reagent. *J. Chromatogr. B. Biomed. Appl.*, 577, 9-18.
- (123) Roberts, L.J., & Morrow, J.D. (2000) Measurement of F2-isoprostanes as an index of oxidative stress *in vivo*. *Free Radic. Biol. Med.*, 28, 505-513.
- (124) Robertson, J.D., Maughan, R.J., Duthie, G.G., & Morrice, P.C. (1991) Increased blood antioxidant systems of runners in response to training load. *Clin. Sci.*, 80, 611-618.
- (125) Rokitzki, L., Logemann, E., Huber, G., Keck, E., & Keul, J. (1994) alpha-tocopherol supplementation in racing cyclists during extreme endurance training. *Int. J. Sport Nutr.*, 4, 253-264.

- (126) Rokitzki, L., Logemann, E., Sagredos, A.N., Murphy, M., Wetzel-Roth, W., & Keul, J. (1994) Lipid peroxidation and antioxidative vitamins under extreme endurance stress. *Acta. Physiol. Scand.*, 151, 149-158.
- (127) Rousseau, A.S., Hininger, I., Palazzetti, S., Faure, H., Roussel, A.M., & Margaritis, I. (2004) Antioxidant vitamins status in over-exposition to oxidative stress in competitive athletes. *Br. J. Nutr.* (sous presse)
- (128) Rumsey, S.C., & Levine, M. (1998) Absorption, transport, and disposition of ascorbic acid in humans. *J. Nutr. Biochem.*, 9, 116-130.
- (129) Sacheck, J.M., Milbury, P.E., Cannon, J.G., Roubenoff, R., & Blumberg, J.B. (2003) Effect of vitamin E and eccentric exercise on selected biomarkers of oxidative stress in young and elderly men. *Free Radic. Biol. Med.*, 34, 1575-1588.
- (130) Saija, A., Scalese, M., Lanza, M., Marzullo, D., Bonina, F., & Castelli, F. (1995) Flavonoids as antioxidant agents: Importance of their interaction with biomembranes. *Free Rad. Biol. Med.*, 19, 481-486.
- (131) Salah, N., Miller, N.J., Paganga, G., Tijburg, L., Bolwell, G.P., & Rice-Evans, C. (1995) Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Arch. Biochem. Biophys.*, 322, 339-346.
- (132) Sánchez-Quesada, J.L., Jorba, O., Payés, A., Otal, C., Serra-Grima, R., González-Sastre, F., & Ordóñez-Llanos, J. (1998) Ascorbic acid inhibits the increase in low-density lipoprotein (LDL) susceptibility to oxidation and the proportion of electronegative LDL induced by intense aerobic exercise. *Coronary Artery Dis.*, 9, 249-255.
- (133) Santos-Silva, A., Rebelo, M.I., Castro, E.M.B., Belo, L., Guerra, A., Rego, C., & Quintanilha, A. (2001) Leukocyte activation, erythrocyte damage, lipid profile and oxidative stress imposed by high competition physical exercise in adolescents. *Clin. Chim. Acta*, 306, 119-126.
- (134) Sastre, J., Asensi, M., Gascó, E., Pallardó, F.V., Ferrero, J.A., Furukawa, T., & Viña, J. (1992) Exhaustive physical exercise causes oxidation of glutathione status in blood: prevention by antioxidant administration. *Am. J. Physiol.*, 263, R992-R995.
- (135) Scalbert, A., Morand, C., Manach, C., & Remesy, C. (2002) Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. *Biomed. Pharmacother.*, 56, 276-282.
- (136) Schmidt, M.C., Askew, E.W., Roberts, D.E., Prior, R.L., Ensign, W.Y. Jr., & Hesslink, R.E. Jr. (2002) Oxidative stress in humans training in a cold, moderate altitude environment and their response to a phytochemical antioxidant supplement. *Wilderness Environ. Med.*, 13, 94-105.

- (137) Schröder, H., Navarro, E., Tramullas, A., Mora, J., & Galiano, D. (2000) Nutrition antioxidant status and oxidative stress in professional basketball players: effects of a three compound antioxidative supplement. *Int. J. Sports Med.*, 21, 146-150.
- (138) Sen, C.K. (2001) Antioxidant and redox regulation of cellular signaling: Introduction. *Med. Sci. Sports Exer.*, 33, 368–370.
- (139) Sen, C.K., Marin, E., Kretzschmar, M., & Hänninen, O. (1992) Skeletal muscle and liver glutathione homeostasis in response to training, exercise, and immobilization. *J. Appl. Physiol.*, 73, 1265-1272.
- (140) Singh, N.P., McCoy, M.T., Tice, R.R., & Schneider, E.L. (1988) A simple technic for quantification of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp. Cell. Res.*, 175, 184-191.
- (141) Sjödín, B., Hellsten, Y., & Apple, F.S. (1990) Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise. *Sports Med.*, 10, 236-254.
- (142) Smith, J.A. (1995) Exercise, training and red blood cell turnover. *Sports Med.*, 19, 9-31.
- (143) Snider, M.T., Balke, P.O., Oerter, K.E., Francalancia, N.A., Bull, A.P., Pasko, K.A., & Robbins, M.E. (1986) Lipid peroxidation during muscular exercise in man: inferences from the pulmonary excretion of n-pentane, isopentane and nitrogen. *Proc. Nutr. Soc.*, 45, 64A.
- (144) Strain, J.J., & Mulholland, C.W. (1992) Vitamin C and vitamin E - Synergistic interactions *in vivo*? *Free Radicals and Aging*, 419-422.
- (145) Subudhi, A.W., Davis, S.L., Kipp, R.W., & Wayne Askew, E. (2001) Antioxidant status and oxidative stress in elite alpine ski racers. *Int. J. Sport Nutr.*, 11, 32-41.
- (146) Sumida, S., Tanaka, K., Kitao, H., & Nakadomo, F. (1989) Exercise-induced lipid peroxidation and leakage of enzymes before and after vitamin E supplementation. *Int. J. Biochem.*, 21, 835-838.
- (147) Sumida, S., Doi, T., Sakurai, M., Yoshioka, Y., & Okamura, K. (1997) Effect of a single bout of exercise and beta-carotene supplementation on the urinary excretion of 8-hydroxydeoxyguanosine in humans. *Free Rad. Res.*, 27, 607-618.
- (148) Sürmen-Gür, E., Öztürk, E., Gür, H., Pündük, Z., & Tuncel, P. (1999) Effect of vitamin E supplementation on post-exercise plasma lipid peroxidation and blood antioxidant status in smokers: with special reference to haemoconcentration effect. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 79, 472-478.
- (149) Tauler, P., Gimeno, I., Aguiló, A., Guix, M.P., & Pons, A. (1999) Regulation of erythro-

cyte antioxidant enzyme activities in athletes during competition and short-term recovery. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 438, 782-787.

(150) Tauler, P., Aguiló, A., Fuentespina, E., Tur, J.A., & Pons, A. (2002) Diet supplementation with vitamin E, vitamin C and β -carotene cocktail enhances basal neutrophil antioxidant enzymes in athletes. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 443, 791-797.

(151) Temiz, A., Baskurt, O.K., Pekcetin, C., Kandemir, F., & Güre, A. (2000) Leukocyte activation, oxidant stress and red blood cell properties after acute, exhausting exercise in rats. *Clin. Hemoreho. Microcirc.*, 22, 253-259.

(152) Tessier, F., Margaritis, I., Richard, M.J., Moynot, C., & Marconnet, P. (1995) Selenium and training effects on the glutathione system and aerobic performance. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 27, 390-396.

(153) Therond, P., Bonnefont-Rousselot, D., Davit-Spraul, A., Conti, M., & Legrand, A. (2000) Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, 3, 373-384.

(154) Thompson, D., Williams, C., Kingsley, M., Nicholas, C.W., Lakomy, H.K.A., McArdle, F., & Jackson, M.J. (2001) Muscle soreness and damage parameters after prolonged intermittent shuttle-running following acute vitamin C supplementation. *Int. J. Sports Med.*, 22, 68-75.

(155) Tiidus, P.M. (1998) Radical species in inflammation and overtraining. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 76, 533-538.

(156) Trotti, R., Carratelli, M., & Barbieri, M. (2002) Performance and clinical application of a new, fast method for the detection of hydroperoxides in serum. *Panminerva Med.*, 44, 37-40.

(157) Vasankari, T., Kujala, U., Heinonen, O., Kapanen, J., & Ahotupa, M. (1995) Measurement of serum lipid peroxidation during exercise using three different methods: diene conjugation, thiobarbituric acid reactive material and fluorescent chromolipids. *Clin. Chim. Acta*, 234, 63-69.

(158) Vasankari, T.J., Kujala, U.M., Vasankari, T.M., Vuorimaa, T., & Ahotupa, M. (1997) Effects of acute exercise on serum and LDL oxidation and antioxidant defenses. *Free Radic. Biol. Med.*, 22, 509-513.

(159) Vasankari, T.J., Kujala, U.M., Vasankari, T.M., Vuorimaa, T., & Ahotupa, M. (1997) Increased serum and low-density-lipoprotein antioxidant potential after antioxidant supplementation in endurance athletes. *Am. J. Clin. Nutr.*, 65, 1052-1056.

- (160) Vasankari, T.J., Kujala, U.M., Sarna, S., & Ahotupa, M. (1998) Effects of ascorbic acid and carbohydrate ingestion on exercise induced oxidative stress. *J. Sports Med. Phys. Fitness*, 38, 281-285.
- (161) Venditti, P., & Di Meo, S. (1997) Effect of training on antioxidant capacity, tissue damage, and endurance of adult male rats. *Int. J. Sports Med.*, 18, 497-502.
- (162) Vider, J., Lehtmaa, J., Kullisaar, T., Vihalemm, T., Zilmer, K., Kairane, C., Landõr, A., Karu, T., & Zilmer, M. (2001) Acute immune response in respect to exercise-induced oxidative stress. *Pathophysiol.*, 7, 263-270.
- (163) Wade, C.R., & Van Rij, A.M. (1988) Plasma thiobarbituric reactivity: reaction conditions and the role of iron, antioxidants and lipid peroxy radicals on the quantitation of plasma lipid peroxides. *Life Sci.*, 43, 1085-1093.
- (164) Watson, T.A., Callister, R., Taylor, R., Sibbritt, D., MacDonald-Wicks, L.K., & Garg, M.L. (2003) Antioxidant restricted diet increases oxidative stress during acute exhaustive exercise. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, 12 (Suppl.), S9.
- (165) Weiss, S.J. (1989) Tissue destruction by neutrophils. *N. Eng. J. Med.*, 320, 365-375.
- (166) Wolff, S.P., Garner, A., & Dean, R.T. (1986) Free radicals, lipids and protein degradation. *Trends Biochem. Sci.*, 11, 27-31.
- (167) Yalcin, O., Bor-Kucukatay, M., Senturk, U.M., & Baskurt O.K. (2000) Effects of swimming exercise on red blood cell rheology in trained and untrained rats. *J. Appl. Physiol.*, 88, 2074-2080.
- (168) Yu, B.P. (1994) Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol. Rev.*, 74, 139

Sport et immunité

(S. Bermon)

CHAPITRE V

Introduction

Bien que les rapports entre l'Immunologie (discipline relativement récente) et la pratique des activités physiques et sportives semblent ne remonter qu'à quelques décennies, Aristote évoquait succinctement ce thème dès 300 ans avant J.C. : "...un Homme tombe en état de maladie comme le résultat du manque d'exercice...". En 1925, Bailey (1), provoqua expérimentalement des infections pneumococciques chez des lapins dont certains étaient contraints à un exercice physique pendant le processus infectieux alors que d'autres étaient entraînés préalablement à la contamination. L'auteur nota alors que : "la fatigue aiguë (épuisement physique) et la fatigue chronique (au sens de l'entraînement physique) sont suivies d'effets opposés dans le cas de l'infection pneumococcique. La première semble rendre les lapins plus fragiles, la seconde moins fragiles....Nos résultats confirment la croyance générale selon laquelle la surcharge soudaine de travail est délétère, alors que l'entraînement aux exercices réguliers peut accroître la résistance à certaines infections." Les bases scientifiques de l'Immunologie de l'Exercice venaient d'être jetées.

Les effets d'un exercice isolé sur la fonction immunitaire

Différents auteurs (2,3) ont rapporté, à de nombreuses reprises au cours des dernières décennies, une augmentation des polynucléaires neutrophiles et une lymphocytopenie marquées au décours d'une forte sollicitation cardiorespiratoire. Parmi toutes les cellules de l'immunité, il apparaît que les cellules Natural Killer, les neutrophiles et les macrophages (réponse immunitaire innée) soient les plus sensibles à l'exercice aigu, à la fois en termes de nombre et de fonction (figure 1). Les exercices les plus intenses et les plus prolongés (cas du marathon par exemple) sont ceux qui provoquent les perturbations cellulaires les plus marquées, alors que des exercices d'intensité inférieure à 60% de $\dot{V}O_2\text{max}$ et de durée inférieure à 60 minutes modifient peu les paramètres immunitaires par rapport à leur valeur de repos (4). L'immunité acquise est elle aussi altérée par un exercice intense, comme en attestent les réductions du nombre total de lymphocyte, du rapport T4/T8, de la prolifération lymphocytaire (en présence d'un agent pathogène ou mitogène), et de la production d'IgA sécrétoire (5). La production d'hormones de stress, les concentrations circulantes de cytokines, l'hyperthermie, les modifications du débit sanguin et la déshydratation sont autant de facteurs expliquant ces changements de l'immunité induits par un exercice. L'élévation per- et post-exercice des concentrations circulantes de cortisol semble à ce titre prépondérante puisque le cortisol démontre *in vivo* des effets supprimeurs sur les cellules éosinophiles, neutrophiles, Natural Killer et les lymphocytes. Ces constatations biologiques, regroupées sous le concept de "open window theory" (figure 2) étayent pour partie les observations épidémiologiques faisant état de risques accrus d'infections (notamment des voies aériennes supérieures) dans les heures ou jours (figure 3) qui font suite à un effort intense et prolongé. La finalité d'un tel profil de réponse reste inconnue et différentes hypothèses tentent de justifier l'immunosuppression post-exercice par la nécessité de l'organisme i) de se préserver du développement de maladies auto-immune, ii) de mettre un système immunitaire (coûteux en énergie) en veille, afin de faciliter la reconstitution des stocks énergétiques, en particulier musculaires.

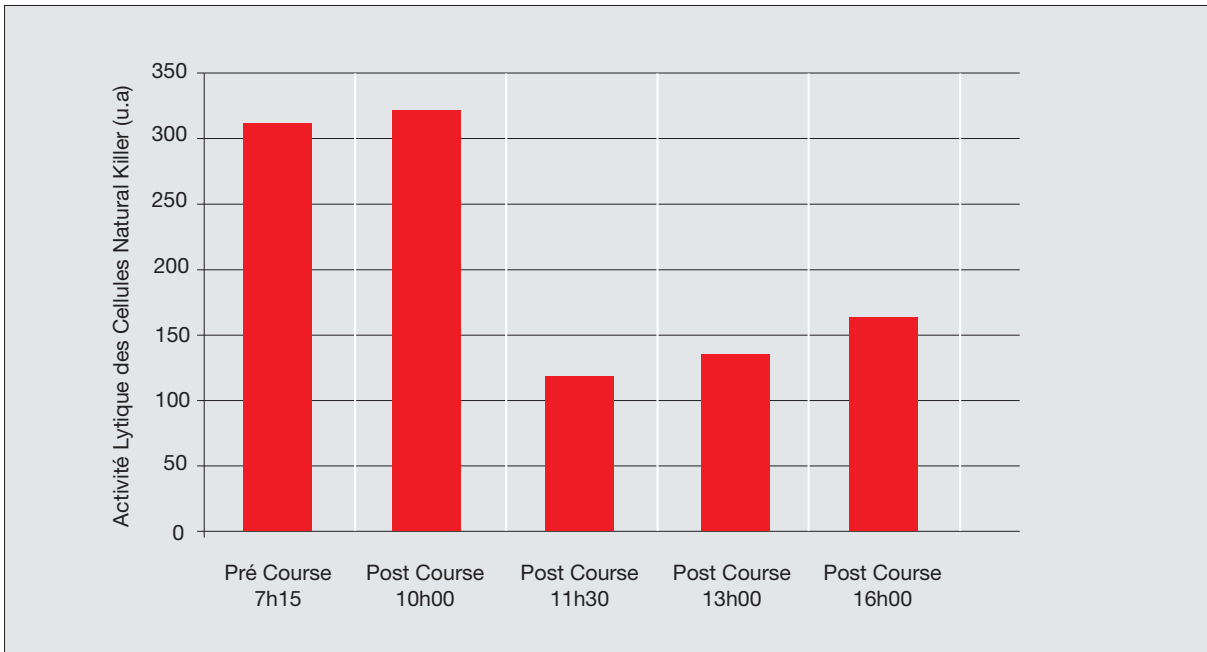


Figure 1 Profil de variation de l'activité lytique des cellules natural killer chez 50 marathoniens ayant couru entre 2h30 et 3h à une intensité moyenne de 75.9 +/- 0.9% de $\dot{V}O_2$ max. D'après (34).

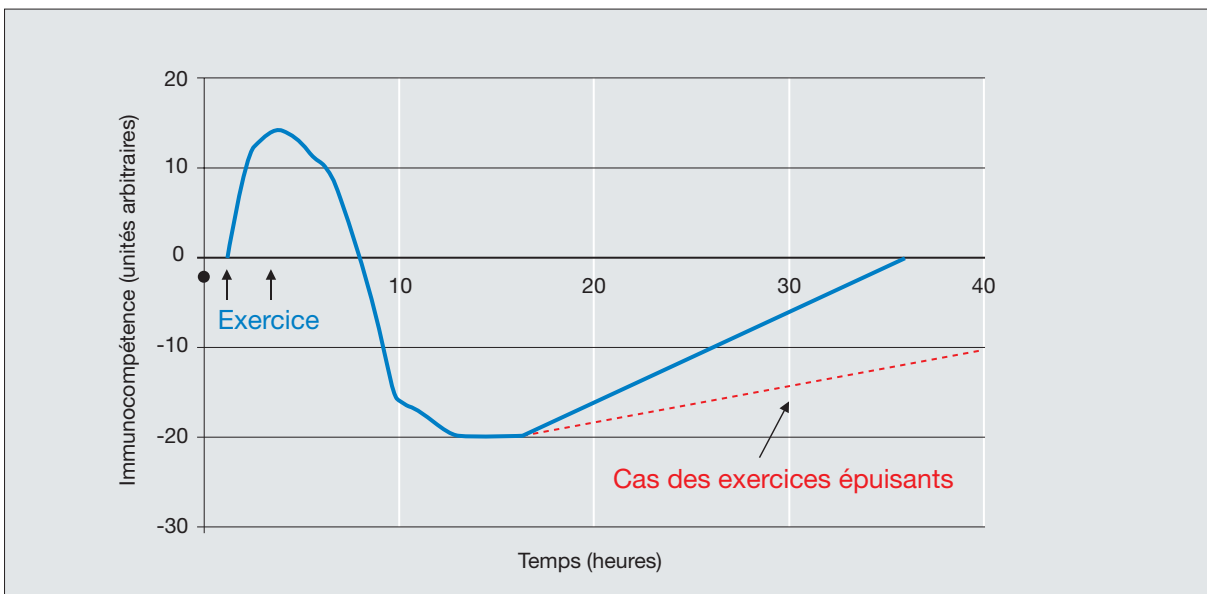


Figure 2 Evolution de la fonction immunitaire globale pendant et après un exercice physique intense.

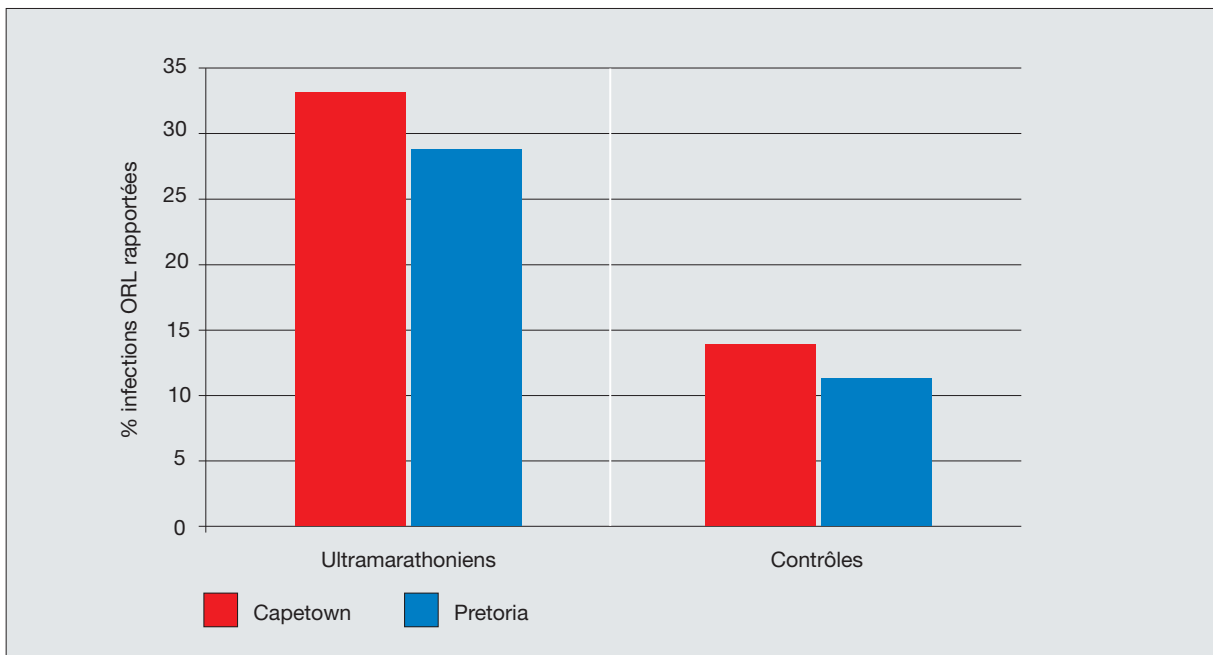


Figure 3 Incidence des infections ORL dans les deux semaines suivant deux épreuves d'ultra-marathon (56 km). La différence avec les sujets contrôles est significative ($p < 0.05$). D'après (35).

Il est donc logique d'inciter les sportifs pratiquant les sports collectifs à ne pas partager leur bidon ou bouteille pendant et après les entraînements.

Les effets de l'entraînement physique sur la fonction immunitaire

Bien que ce sujet fasse encore l'objet d'investigations cliniques et biologiques à ce jour, deux tendances générales, différentes selon l'importance de l'entraînement, semblent d'ores et déjà se dégager.

Il apparaît qu'un entraînement physique d'intensité modérée (3 à 5 séances hebdomadaires de 30 à 60 minutes à une intensité de 40 à 60% de $\dot{V}O_2$ max) mené pendant plusieurs mois permet une réduction de moitié du nombre de jours avec une infection (6-8). Cependant, il convient de préciser qu'à aucun moment durant la période de déclaration des éventuelles infections les investigateurs n'ont observé de modifications significatives du statut immunitaire de repos. Il semble donc que cet effet "protecteur" de l'activité physique régulière soit surtout un effet de sommation des changements positifs de l'immunité observés après chaque session d'exercice physique.

Pour ce qui concerne les régimes d'entraînement plus intensifs, les résultats expérimentaux sont mitigés. En effet, si l'activité cytolytique des cellules Natural Killer semble accrue chez les sportifs très entraînés, la fonction de phagocytose des polynucléaires neutrophiles est largement réprimée, expliquant probablement la survenue fréquente d'infections de la sphère ORL en "période d'affûtage".

Ce retentissement différencié de l'entraînement physique sur la survenue des infections de la sphère ORL obéit à une "courbe en J" (figure 4).

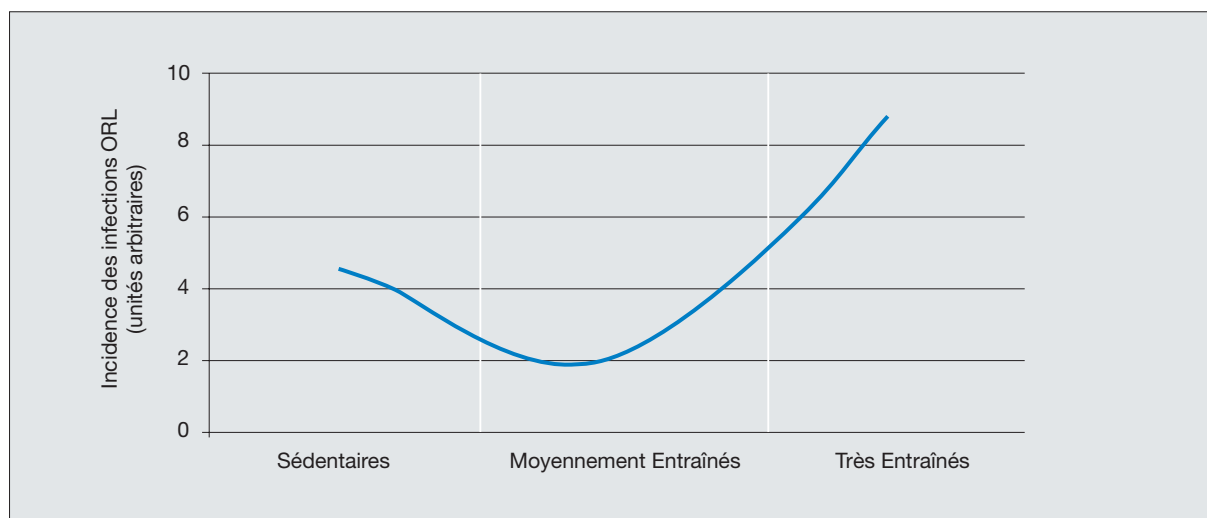


Figure 4 Incidence des infections ORL, selon le niveau d'activité physique.

Etats de surentraînement et fonction immunitaire

En l'absence d'un marqueur clinique ou biologique suffisamment sensible et spécifique, les états de surentraînement débutants ou avérés posent toujours au biologiste et au médecin du sport un problème diagnostique. Il semble malheureusement que le suivi, tant quantitatif que qualitatif, des différentes sous populations leucocytaires ne soit pas en mesure d'aider au diagnostic (9). Enfin, la cartographie des cytokines circulantes, technique coûteuse et compliquée, n'a pour l'instant pas fait la preuve de son intérêt dans le diagnostic du surentraînement.

Quelques travaux très récents (10) rapportent des descriptions clinico-biologiques de réactivation d'infection à virus d'Epstein-Barr (EBV), lors des périodes d'entraînement intensif. Dans cette étude intéressant des nageurs de haut niveau, 64% des symptômes d'infection des voies aériennes supérieures étaient en rapport avec une réactivation sérologique d'une infection à EBV. En revanche, cette réactivation pouvait expliquer seulement 7% des symptômes d'infection des voies aériennes supérieures chez des coureurs de fond. Ce dernier point plaide pour un rôle spécifique du sport dans le diagnostic étiologique des infections de la sphère ORL. Enfin, le suivi des concentrations salivaires d'IgA pourrait constituer un bon marqueur de la tolérance de l'entraînement. En effet, il a été observé (11) une réduction marquée des concentrations en situation d'entraînements très intensifs.

Cas de l'immunité muqueuse et de la mesure des IgA

Comme cela a été énoncé précédemment, l'évaluation de l'immunité muqueuse peut s'avérer intéressante dans le cadre de la biologie du sport. Bien que le démantèlement des relations entre immunité de surface et exercice soit encore incomplet les travaux jusqu' alors effectués permettent d'affirmer les points suivants :

- La concentration salivaire en IgA décroît en réponse à l'exercice de haute intensité, mais demeure généralement inchangée (voire augmente légèrement) en réponse à l'exercice d'intensité faible à modérée (12,13),
- Un entraînement de haute intensité maintenu durant plus de 6 mois s'associe généralement à une réduction des concentrations salivaires d'IgA (14),
- Plus les concentrations salivaires d'IgA sont basses, plus grand est le risque d'infection ou de symptômes d'infection des voies aériennes supérieures (15),
- La concentration salivaire d'IgA est très différente dans des populations de condition physique différentes (27),
- Certains individus peuvent montrer une évolution d'IgA salivaire très différente de celle du groupe auquel ils appartiennent (sexe, âge, niveau et type d'entraînement) (17),
- Les effets immuno-suppressifs de l'exercice sur les concentrations salivaires en IgA peuvent légèrement être améliorés par des mesures nutritionnelles (18).

Au plan pré-analytique, les facteurs susceptibles de modifier de façon significative les mesures d'IgA salivaire devront être contrôlés. Ainsi, devront être précisés :

- le site de prélèvement : salive mélangée, parotidienne ou sous mandibulaire,
- la condition de jeûne ou post prandiale, ainsi que l'heure du recueil,
- si le recueil a été effectué avec ou sans stimulation,
- la méthode de recueil : coton absorbant, pompe à succion, salivette,
- moyens de transport et de stockage

Au plan analytique, la méthode de dosage des IgA salivaires doit être conforme aux Références Internationales pour la Préparation des Protéines (BCR, CRM 470, (19))

Enfin, il semble exister, chez le nageur tout au moins, une relation assez étroite entre les concentrations salivaires d'IgA et l'infection à EBV. Gleeson et al (10) ont en effet montré que des valeurs basses d'IgA salivaires précédaient l'apparition biologique de l'ADN EBV, alors que les taux d'IgA étaient très élevés lors de la réactivation sérologique de l'infection à EBV.

Place de l'Interleukine-6 en immunologie de l'exercice

Généralités

L'interleukine 6 (IL-6) est une cytokine pour laquelle subsiste un débat afin de la classer dans le groupe des cytokines pro-inflammatoires (comme le TNF- α ou l'interleukine-1 (IL-1)) ou anti-inflammatoires (comme l'antagoniste du récepteur à l'IL-1 (IL-1ra) ou l'IL-10). Ainsi, l'hypothèse d'un effet pro-inflammatoire de l'IL-6 est basée à la fois sur l'augmentation de ses concentrations circulantes lors des phases précoces de l'infection et également sur le fait que cette cytokine soit impliquée dans quelques maladies auto-immunes. Cependant, IL-6 exerce des effets anti-inflammatoires très marqués, puisqu'elle contrôle la réponse pro-inflammatoire du TNF- α en situation d'endotoxémie (20) et qu'elle induit directement la sécrétion de cortisol (21) et de CRP (22).

La concentration plasmatique d'IL-6 augmente progressivement pendant l'exercice physique pour atteindre une valeur pic à la fin de l'effort et le retour aux concentrations de repos est obtenu en quelques dizaines de minutes. Toutefois, il a été clairement démontré que cette production d'IL-6 est d'origine musculaire, mais sans rapport avec les phénomènes de dommages musculaires secondaires à l'exercice musculaire (23). Par exemple, un modèle d'exercice musculaire intense et concentrique (peu pourvoyeur de microlésions musculaires) induit des concentrations circulantes d'IL-6 nettement plus importantes qu'un modèle d'exercice musculaire moyennement intense, excentrique (fortement pourvoyeur de microlésions musculaires). De plus, aucune corrélation n'a été retrouvée entre les concentrations plasmatiques d'IL-6 et de CPK après un exercice musculaire excentrique (24).

Au sein du muscle strié squelettique, la transcription du gène de l'IL-6 s'effectue après seulement 30 minutes d'exercice.

Les effets immunitaires de l'IL-6 d'origine musculaire (Tableau I)

Chez l'Homme au repos, une infusion d'IL-6 entraîne une augmentation du cortisol plasmatique selon un profil similaire à celui obtenu lors de l'exercice intense (22). En revanche aucune augmentation d'autres hormones de stress telles le glucagon, l'adrénaline et la noradrénaline n'est obtenue dans cette situation. De plus, l'infusion d'IL-6 induit l'augmentation d'IL-1ra, d'IL-10, alors qu'elle précède, lors de l'exercice, l'augmentation de ces deux cytokines. IL-6 et IL-4 stimulent les monocytes et les macrophages à produire IL-1ra

et donc inhiber les effets d'IL-1. Enfin, IL-10 et IL-4, qui sont principalement produites par les lymphocytes Th2, les monocytes et les lymphocytes B, peuvent réprimer la voie Th1.

Au total, l'exercice intense diminue le pourcentage de cellules Th1 dans la circulation. Cet effet est amplifié par le cortisol et l'adrénaline qui répriment les cytokines de la voie Th1, alors qu'IL-6 stimule directement les cytokines de la voie Th2. Ces considérations sur les voies Th1 et Th2 sont très importantes puisqu'il convient de rappeler qu' :

- une dominance de la voie Th1 :
 - est observée chez les sujets plutôt jeunes,
 - est observée lors des exercices physiques de faible intensité,
 - favorise la protection contre les virus,
 - accroît l'hypersensibilité de type retardée
- une dominance de la voie de Th2 :
 - est observée chez des sujets plutôt âgés,
 - est observée lors des exercices physiques de forte intensité,
 - favorise la protection contre les agents bactériens,
 - réduit l'incidence et la symptomatologie des maladies auto-immunes.

La compréhension progressive de cet équilibre Th1 - Th2, et le rôle primordial joué par IL-6 en situation d'exercice intense, permettent ainsi de mieux expliquer des faits cliniques ou épidémiologiques tels :

- l'incidence accrue des infections virales des voies aériennes supérieures chez les sportifs soumis à un entraînement intensif,
- l'amélioration, avec l'exercice régulier, de la symptomatologie de pathologies telles le diabète de type 1, les thyroïdites auto-immunes ou la maladie de Crohn.

IL-6 comme agent de signalisation métabolique

L'exercice physique, surtout prolongé ou intense, s'accompagne d'une réduction de la disponibilité des stocks de glycogène d'une part, et d'une augmentation de la concentration circulante d'IL-6 d'autre part. C'est ainsi qu'a été avancé l'hypothèse d'un rôle métabolique de l'IL-6 lors des situations d'exercice musculaire notamment. En effet, les résultats d'expérimentations humaines ou animales concernant l'infusion d'IL-6 au repos sont assez discordants quant à un éventuel effet sur le métabolisme glucidique. En revanche, Febbraio *et al.* (25) ont bien montré chez l'humain à l'effort un effet propre de l'IL-6 sur la production et la clairance métabolique du glucose ; un tel effet ne pouvant être attribué à

l'insuline, au glucagon, aux catécholamines, au cortisol ou à l'hormone de croissance. Parallèlement, les effets d'IL-6 sur le métabolisme lipidique ont été étudiés. Il est intéressant de noter que le fait d'augmenter artificiellement les concentrations circulantes d'IL-6, conformément à ce que l'on observe à l'exercice, augmente la lipolyse, et la beta-oxydation des acides gras et réduit les concentrations circulantes de triacylglycérol (26). De même, l'infusion d'IL-6 réduit la taille du pannicule adipeux abdominal. Enfin, les souris IL-6 knockout (déficiente pour le gène de l'IL-6) développent une obésité précoce (27). Cet ensemble de résultats identifie donc l'IL-6 comme un facteur endocrine d'origine musculaire nécessaire à la régulation énergétique en situation d'exercice physique (Tableau I).

Tableau I : Etat actuel des connaissances pour ce qui concerne les principaux effets immunitaires et métaboliques de l'IL-6.

<i>Effets démontrés</i>	<i>Effets suspectés</i>
Augmentation [neutrophiles]	Réduction Th1/Th2
Réduction [TNF- α]	Réduction incidence athérosclérose
Augmentation [IL-10]	Réduction incidence maladies auto-immunes
Augmentation [IL-1 ra]	Augmentation métabolisme du glucose
Augmentation [CRP]	Réduction de la survenue du diabète type 2
Augmentation [Cortisol]	
Favorise la lipolyse	
Favorise l'oxydation lipidique	
Réduction les [triacylglycerol]	

Pratique sportive pendant les états infectieux

Un adulte sain contracte en moyenne une à trois infections de la sphère ORL par an. Les rhinovirus représentent 40% de ces infections. La poursuite d'un programme d'entraînement chez un sportif porteur d'une telle pathologie infectieuse aiguë présente-t-elle un risque? Pour répondre à cette question, Weidner *et al.* (28) ont inoculé cette souche virale à des sujets jeunes modérément actifs préalablement contraints pour la moitié d'entre eux à 40 minutes d'exercice à environ 70% de $\dot{V}O_2$ max, un jour sur deux pendant 10 jours. L'intensité des symptômes évaluée de façon subjective et objective (poids des mucosités de mouchage) s'est avérée identique dans les deux groupes. Ces résultats et d'autres suggèrent donc qu'un exercice modéré effectué pendant une virose des voies aéro-digestives supérieures n'aggrave pas l'évolution de la maladie. En revanche, Malm (29) s'est intéressé aux effets d'une compétition de marathon sur la survenue ultérieure d'infections ORL. Au sein des 17% de la population étudiée, qui avaient rapporté un épisode infectieux dans les 3 semaines précédents l'épreuve, 33% ont présenté un épisode du même type dans les trois semaines suivantes. En revanche, ce taux d'infection n'était que de 16% dans le groupe des sujets indemnes d'infection durant les 3 semaines précompétitives. Ceci tend donc à montrer que le taux d'infections pré-compétitives détermine pour partie celui des infections post-compétitives.

Dans une situation d'affection virale, quels arguments doivent conduire le médecin à autoriser ou contre-indiquer provisoirement la pratique sportive ?

Pour répondre à cette question, Eichner (30) propose la démarche suivante :

- si les symptômes sont localisés au dessus du cou (rhinorrhée, encombrement nasal, gorge irritée), l'entraînement doit être débuté à une intensité basse. Si après quelques minutes d'exercice, les symptômes disparaissent, l'intensité peut être progressivement augmentée.
- si les symptômes sont localisés en dessous du cou (fièvre, myalgies, toux productive, vomissement, diarrhée), la séance d'entraînement doit être reportée.

Une attention particulière doit être portée aux viroses survenant l'été et l'automne, car elles sont souvent le fait d'entérovirus. Bien que ces virus soient rarement responsables de manifestations ORL, certains d'entre eux (ECHO et Coxsachie virus) sont responsables de méningites aseptiques et de myocardites. Cette dernière affection, comme le révèlent des examens anatomo-pathologiques de sportifs décédés brutalement pendant leur pratique, voit son incidence accrue par l'exercice (31). Dans ce cas, la prescription d'un électrocardiogramme et /ou d'une échographie cardiaque semble licite avant d'autoriser la reprise sportive.

Manipulations nutritionnelles et immunité du sportif

Différentes équipes (voir 32 pour revue) ont évalué le retentissement de suppléments en zinc, vitamines C et E, glutamine ou glucides sur la réponse immunitaire à un exercice physique intense et prolongé.

Aucune étude reproductible n'a réussi à mettre en évidence une atténuation de la phase d'immunosuppression post-exercice, après administration de zinc ou de vitamine C. La vitamine E à raison de 400 mg par jour, par ses actions sur les métabolismes du NO et de la prostaglandine E2, pourrait jouer un rôle immunomodulateur chez l'homme et agirait donc favorablement sur la survenue d'épisodes infectieux. De même, il semble qu'une telle supplémentation permette chez le sujet âgé de limiter la réaction inflammatoire secondaire à des régimes de contractions musculaires excentriques (33).

La glutamine, acide aminé consommé en quantité importante lors des exercices intenses et prolongés, assure environ 35% des besoins énergétiques des lymphocytes et monocytes. La diminution des concentrations circulantes en glutamine observée à la suite de ce type d'exercice constitue, au plan théorique, une explication élégante au phénomène d'immuno-suppression post-exercice. Toutefois, les tentatives de contrôle de cette réduction transitoire de la fonction immunitaire, par le biais d'une supplémentation orale en vitamine E n'ont pu être reproduites à ce jour.

Les résultats les plus concluants, en matière de manipulation nutritionnelle, concernent les glucides. Nieman et Pedersen (32) ont démontré de façon formelle que l'administration de boissons contenant des glucides avant et pendant un exercice de longue durée permet une moindre perturbation des fonctions immunitaires (phagocytose, production de cytokines, réduction de la réaction inflammatoire...). Cet effet immunomodulateur des glucides s'exerce par une atténuation de la réponse hormonale de stress (cortisol, hormone de croissance) dont les effets immunosuppresseurs sont connus.

Conclusion

Une compilation bibliographique sur le thème met en évidence la nécessité d'études humaines complémentaires avant de pouvoir statuer de façon formelle sur les intrications entre l'immunité, les infections et la pratique sportive. Toutefois, quelques applications pratiques, utiles sur le terrain, découlent des travaux déjà effectués. L'existence d'une phase biologique d'immunosuppression post-exercice après des efforts intenses et ou prolongés d'une part et les effets délétères sur les défenses anti-infectieuses des entraînements intensifs d'autre part, sont deux pierres angulaires du raisonnement clinico-biologique en Immunologie du Sport. De plus, les IgA semblent représenter un marqueur biologique intéressant de la tolérance des entraînements. Enfin, l'administration de glucides pendant l'effort doit pour l'instant, être retenue comme la seule manipulation nutritionnelle permettant une limitation de l'immunosuppression post-exercice. Ces quatre dernières constatations permettent alors aux médecins et entraîneurs sportifs la mise en œuvre de mesures préventives en matière de limitation des épisodes infectieux. Toutefois et pour terminer, force est de constater que bon nombre de sportifs ont probablement été préservés de blessures graves par la survenue (salvatrice) d'un simple rhume...

Bibliographie

- (1) Bailey GW. The effect of fatigue upon the susceptibility of rabbits to intratracheal injections of type I pneumococcus. *Am J Hygiene*, 1925, 5, 175-295.
- (2) Garrey WE, Bryan WR. Variations in white blood cell counts. *Physiol Rev*, 1935, 15, 597-638.
- (3) Nieman DC, Nehlsen-Cannarella SL. The effect of acute and chronic exercise on immunoglobulins. *Sports Med*, 1991, 11, 183-201.
- (4) Nieman DC. Exercise immunology: practical applications. *Int J Sports Med*, 1997, 18, Suppl 1, 91-100.
- (5) Brenner IKM, Shek PN, Shephard RJ. Infection in athletes. *Sports Med*, 1994, 17, 86-107.
- (6) Nieman DC, Nehlsen-Cannarella SL, Markoff PA *et al.* The effect of moderate exercise training on natural killer cells and acute upper respiratory tract infections. *Int J Sports Med*, 1990, 11, 467-473.
- (7) Nieman DC, Henson DA, Gusewitch G *et al.* Physical activity and immune function in elderly women. *Med Sci Sports Exerc*, 1993, 25, 823-831.
- (8) Nieman DC, Henson DA. Role of endurance exercise in immune senescence. *Med Sci Sports Exerc*, 1994, 26, 172-181.
- (9) Gabriel HHW, Urhausen A, Valet G, *et al.* Overtraining and immune system: a prospective longitudinal study in endurance athletes. *Med Sci Sports Exerc*, 1998, 30, 1151-1157.
- (10) Gleeson M, Pyne DB, Austin JP, Francis JL, Clancy RL, McDonald WA, Fricker PA. Epstein-Barr virus reactivation and upper respiratory illness in elite swimmers. *Med Sci Sports Exerc*, 2002, 35, 411-417.
- (11) Pyne DB, Gleeson M. Effect of intensive exercise training on immunity in athletes. *Int J Sports Med*, 1998, Suppl 3, 183-191.
- (12) Dorrington M, Gleeson M, Callister R. Effect of exercise intensity on salivary IgA in children. *J Sci Med Sport*, 2003, 6, 46
- (13) Gleeson M, Pyne D. Exercise effect on mucosal immunity. *Immunol Cell Biol*, 2000, 78, 536-544

- (14) Gleeson M, McDonald WA, Cripps AW, Pyne DB, Clancy RL, Fricker PA, Woldarczyk JW. Exercise stress and mucosal immunity in elite swimmers. In *Adv Muc Immunol J* Mestecky, M Russel, S Jackson, S Michalck, H Hogenova and J Sterzl (Eds) New York: Plenum Publishing Corporation, 1995, 571-574
- (15) Gleeson M McDonald WA, Pyne DB, Cripps AW, Francis JL, Fricker PA. Salivary IgA levels and infection risk in elite swimmers. *Med Sci Sports Exerc*, 1999, 36, 67-73
- (16) Francis JL, Gleeson M, Pyne DB, Callister R, Clancy RL. Components of variance in salivary immunoglobulin measures for exercise and sedentary populations. In 6th ISEI Symposium, Copenhagen: ISEI (2003), 87
- (17) Gleeson M, Ginn E, Francis JL. Salivary immunoglobulin monitoring in an elite kayaker. *Clin J Sports Med*. 2000, 10, 206-208
- (18) Gleeson M, Lancaster GI, Bishop NC. Nutritional strategies to minimise exercise-induced immunosuppression in athletes. *Can J Appl Physiol*. 2001, 26, S23-S35.
- (19) Wicher JT, Ritchie RF, Johnson AM, Boudner S, Bienvenu J, Blirup-Jensen S, Carlstrom A, Dati F, Ward AM, Svendsen PJ. New international reference preparation for protein in human serum. *Clin Chem*, 1994, 40, 934-938
- (20) Starkie R, Ostrowski SR, Jauffred S, Febbraio M, Pedersen BK. Exercise and IL-6 infusion inhibits endotoxin-induced TNF- α production in humans. *FASEB J*, 2003, 17, 884-886.
- (21) Bethin KE, Vogt SK, Muglia LJ. Interleukin-6 is an essential corticotropin-releasing hormone- independent stimulator of the adrenal axis during immune system activation. *PNAS*. 2000, 97, 9317-9322.
- (22) Steensberg A, Fischer CP, Keller C, Moller K, Pedersen BK. IL-6 enhances plasma IL-1ra, IL-10 and cortisol in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2003, 285, E433-E437
- (23) Croisier JL, Camus G, Venneman I, Deby-Dupont G, Juchmes-Ferir A, Lamy M, Crielaard JM, Deby C, Duchateau J. Effects of training on exercise-induced muscle damage and interleukin 6 production. *Muscle Nerve*. 1999, 22, 208-212.
- (24) Pedersen BK, Steensberg A, Schjerling P. Muscle-derived IL-6 : possible biological effects. *J Physiol*. 2001, 536, 329-337.
- (25) Febbraio MA, Hiscock N, Sacchetti M, Fischer CP, Pedersen BK. Interleukin-6 is a novel factor mediating glucose homeostasis during skeletal muscle contraction. *Diabetes*. 2004 Jul;53(7):1643-8

- (26) van Hall G, Steensberg A, Sacchetti M, Fischer C, Keller C, Schjerling P, Hiscock N, Moller K, Saltin B, Febbraio MA, Pedersen BK. Interleukin-6 stimulates lipolysis and fat oxidation in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003, 88, 3005-3010
- (27) Wallenus V, Wallenius K, Arhen B, Rudling M, Carlsen H, Dickson SL, Ohlsson C, Jansson JO. Interleukin-6-deficient mice develop mature-onset obesity. *Nature Medicine.* 2002, 8, 75-79.
- (28) Weidner TG, Cranston T, Schur T *et al.* The effect of exercise training on the severity and duration of a viral upper respiratory illness. *Med Sci Sports Exerc*, 1998, 11, 1578-1530.
- (29) Malm C. Exercise Immunology. The current state of the man and mouse. *Sports Med*, 2004, 34, 555-566.
- (30) Eichner ER. Infection immunity and exercise. *Physician Sportsmed*, 1993, 21, 125.
- (31) Burch GE. Viral disease of the heart. *Acta Cardiol*, 1979, 34, 5-9.
- (32) Nieman DC, Pedersen BK. Exercise and immune function. Recent developments. *Int J Sports Med*, 1999, 27, 73-80.
- (33) Meydani SN. Vitamin E, immune response, and infectious diseases: fact or fiction? *Proceedings of 4th international symposium on Exercise and Immunology*, 1999, Roma, p31-32.
- (34) Nieman DC, Henson DA, Garner EB, Butterworth DE, Warren BJ, Utter A, Davis JM, Fagoaga OR, Nehlsen-Cannarella SL. Carbohydrate affects natural killer cell redistribution but not activity after running. *Med Sci Sports Exerc*, 1997, 29,1318-24
- (35) Peters EM, Bateman ED. Ultramarathon running and upper respiratory tract infections. An epidemiological survey. *S Afr Med J*, 1983, 64, 582-584.

**Les limites analytiques
lors de la recherche
d'une consommation de
produits dopants**

(Y. Jacomet)

Introduction

Toutes les méthodes de mesure et d'analyse aussi performantes qu'elles soient en physique, chimie, astronomie, biologie ou médecine et autres ont des facteurs limitants dont l'essentiel tient en la différence entre spécificité et sensibilité. Pour une méthode donnée, toute augmentation de la sensibilité s'accompagne automatiquement d'une perte de spécificité (1). La **sensibilité** (Se) permet de quantifier une mesure et la **spécificité** (Sp) permet d'identifier le phénomène mesuré. Augmenter la sensibilité d'une méthode n'a pas de sens en soi si l'on veut par ce moyen identifier une molécule, par exemple un produit dopant. Car, cette augmentation de sensibilité, qui s'accompagne automatiquement d'une perte de spécificité, devra être relayée par l'emploi d'une deuxième méthode d'un mécanisme différent pour restaurer le niveau perdu de spécificité en vue d'une identification. Sinon, la quantification est possible puisque c'est un acte simplement technique mais l'identification n'est plus possible ou devient plus incertaine. (D'ailleurs, la transparence voudrait que les autorités sportives communiquent les valeurs quantitatives retrouvées pour les sportifs détectés positifs ainsi que le détail des techniques utilisées.)

Comme ce phénomène n'est pas quantique et ne répond donc pas par tout ou rien ni par paliers, il faut **raisonner de manière probabiliste**. La probabilité d'identifier une molécule diminue quand la sensibilité augmente. La combinaison des deux, sensibilité et spécificité, conduit à l'établissement d'un diagnostic et en l'occurrence un diagnostic de consommation d'un produit dopant. Il y a donc une différence considérable entre une mesure quantitative à bas seuil qui relève d'une grande sensibilité mais qui n'identifie pas forcément la molécule recherchée et une identification de la molécule qui ne peut se faire qu'à un seuil de sensibilité plus élevé mais qui établit de manière presque certaine un "diagnostic" de consommation du produit recherché.

Ces notions sont utilisées quotidiennement en médecine dans tous les actes servant à l'établissement d'un diagnostic de quelque nature qu'ils soient. Chaque médecin a remarqué qu'un examen radiologique, anatomo-pathologique, biologique ou clinique ne suffit jamais à faire un diagnostic avec certitude au voisinage des valeurs basses de décision et que plus leur sensibilité est élevée plus le risque de poser un diagnostic erroné est élevé pour ces valeurs basses. Un diagnostic repose donc le plus souvent en médecine sur le recoupement des résultats de plusieurs méthodes. La très grande sensibilité d'un examen per-

met seulement de réduire le nombre total des examens diagnostiques à prescrire et leur répétition mais pas forcément de beaucoup. Mais, une trop grande sensibilité peut devenir néfaste et conduire carrément à une spécificité quasi-nulle.

La recherche des produits dopants obéit à ces règles et il ne sert à rien d'augmenter la sensibilité des appareils de mesure si on perd la certitude d'avoir identifié le produit. Il faut que l'apparition d'un signal dans l'appareil de mesure corresponde à une absorption de produit par le sportif donc à un diagnostic de consommation avec une probabilité proche de 100%. On va voir que cette probabilité peut diminuer rapidement lorsque la sensibilité augmente !

L'interprétation bayésienne

La définition :

Le théorème de Bayes résout un problème extrêmement simple aux applications multiples. Dans un contrôle anti-dopage, il répond à la question: "*Quelle est la probabilité d'avoir consommé un produit dopant quand sa recherche s'est avérée positive ?*" Sa valeur conduit à mesurer l'écart entre le nombre des sportifs réellement dopés et ceux déclarés positifs. Autrement dit, c'est un pourcentage d'erreurs. Ce n'est ni la sensibilité (Se) ni la spécificité (Sp) d'une analyse qui peut donner la réponse mais une combinaison des deux appelée **valeur prédictive positive** (VPP) entièrement fonction de la connaissance que l'on a a priori de la composition (p) de la population d'origine:

$$VPP = \frac{P \times Se}{P \times Se + (1 - P)(1 - Sp)}$$

Inversement, le théorème de Bayes permet aussi de calculer une valeur prédictive négative ((VPN) qui répond à la question: "*Quelle est la probabilité de ne pas avoir consommé de produit dopant quand sa recherche s'est avérée négative ?*": Contrairement à une idée pro-

$$VPN = \frac{(1 - P)Sp}{(1 - P)Sp + P(1 - Se)}$$

fondément ancrée dans les esprits, ce n'est pas la sensibilité (Se) qui compte finalement mais la valeur prédictive positive (VPP) c'est à dire la probabilité qu'un sportif détecté au-dessus d'un seuil de sensibilité fixé à l'avance ait réellement consommé un produit dopant. En effet, si un sportif n'a pas consommé de produit dopant, le fait qu'il soit supérieur au seuil de détection n'a aucun intérêt pour personne et c'est une erreur judiciaire ou disciplinaire qui s'annonce et qu'il faut pouvoir cerner à l'avance. C'est un problème bien connu en médecine qui se pose pour toute interprétation diagnostique: "*Quelle est la probabilité de la maladie susceptible d'avoir entraîné une déviation du signe biologique en-dehors des valeurs normales ?*". Question qui se pose quotidiennement en imagerie médicale, en anatomo-pathologie, en hématologie et dans tout examen biologique (virologie, biochimie, parasitologie, immunologie etc.) (2)

L'enjeu consiste donc à choisir un seuil de sensibilité qui minimisera le plus possible l'erreur entre le nombre de sportifs réellement dopés et celui des sportifs déclarés positifs. Dès lors, le seuil de sensibilité retenu devient un **seuil de décision** ou un seuil discriminant pour le différencier de l'aspect purement analytique et technique de la question qui définit un seuil de détection idéalement différent.

En effet, ce n'est pas parce qu'un examen est sensible à 99% qu'il fera coïncider parfaitement le seuil de décision et le seuil de détection. Loin de là. C'est dû au fait que plus un examen est sensible moins il est spécifique à pouvoir discriminant constant. Et, la spectrométrie de masse dans un laboratoire de toxicologie n'échappe pas à ce raisonnement, bien au contraire. L'identification d'une molécule de produit dopant en mode FULL SCAN peut être spécifique à 99% pour un seuil voisin de 1 µg/l ou supérieur mais sa quantification en mode SIM pour un seuil de 1 µg/l et au-dessous n'est plus spécifique à 99% même si elle devient sensible à 99% au lieu de 95% (**figure 1**). C'est évidemment applicable à la nandrolone, aux autres hormones, stéroïdes ou non, et à n'importe quel produit dopant ainsi qu'à tous les médicaments, tous les stupéfiants et toutes les mesures d'une concentration quelconque de n'importe quelle substance.

Les calculs

Un calcul simple à partir du théorème de Bayes donne les résultats suivants :

Si le pourcentage des sportifs ayant consommé un produit dopant en vue de cette compétition est de 20% (i.e. probabilité pré-test ou a priori) :

Pour une spécificité de 99% et une sensibilité de 95% (mode FULL SCAN), la probabilité d'avoir consommé un produit dopant quand le résultat du dosage est supérieur au seuil de détection correspondant, fixé par exemple à 1 µg/l, est de 0,96.

Pour une spécificité de 95% et une sensibilité de 99% (mode SIM), la probabilité d'avoir consommé ce produit dopant, quand le résultat du dosage est supérieur à son seuil de détection de 1 µg/l, n'est plus que de 0,83. **Ce qui peut donc conduire à 17% d'erreurs!** (Tableau I)

Si le pourcentage des sportifs ayant consommé un produit dopant en vue de cette compétition est de 15% (probabilité pré-test ou a priori) :

Pour une spécificité de 99% et une sensibilité de 95% (mode FULL SCAN), la probabilité d'avoir consommé un produit dopant quand le résultat du dosage est supérieur au seuil fixé par la loi de 1 µg/l est de 0,94.

Pour une spécificité de 95% et une sensibilité de 99% (mode SIM), la probabilité d'avoir consommé ce produit dopant quand le résultat du dosage est supérieur au seuil fixé par la loi de 1 µg/l est de 0,78. **Ce qui peut donc conduire à 22% d'erreurs!** (Tableau I)

Et, si la multiplication des contrôles en arrive à être efficace au point que le pourcentage des sportifs ayant consommé un produit dopant en vue de cette compétition est de 10% (probabilité pré-test ou a priori) :

Pour une spécificité de 99% et une sensibilité de 95% (mode FULL SCAN), la probabilité d'avoir consommé un produit dopant quand le résultat du dosage est supérieur au seuil fixé par la loi de 1 µg/l est de 0,91.

Pour une spécificité de 95% et une sensibilité de 99% (mode SIM), la probabilité d'avoir consommé ce produit dopant quand le résultat du dosage est supérieur au seuil fixé par la loi de 1 µg/l est de 0,69. **Ce qui peut donc conduire à 31% d'erreurs!** (Tableau I).

Même si l'on veut discuter les taux de spécificité et de sensibilité, on voit que le nombre d'erreurs judiciaires ou disciplinaires à prévoir peut être très élevé au voisinage d'un seuil de détection et s'aggraver en fonction de la probabilité pré-test. Il n'est donc jamais indiqué de se livrer à une interprétation au voisinage d'un seuil de détection abusivement bas quand l'enjeu est de taille comme dans une affaire judiciaire ou disciplinaire.

Tableau I : Probabilité pré-test P-basse

Exemple : toxicologie et échantillon de composition inconnue.

full scan			sim		
P		0,2	P		0,2
Se		0,95	Se		0,99
Sp		0,99	Sp		0,95
VPP	$P*Se/(P*Se+(1-P)*(1-Sp))$	0,959596	VPP	$P*Se/(P*Se+(1-P)*(1-Sp))$	0,831319
VPN	$(1-P)*Sp/((1-P)*Sp+P*(1-Se))$	0,987531	VPN	$(1-P)*Sp/((1-P)*Sp+P*(1-Se))$	0,997375
P		0,15	P		0,15
Se		0,95	Se		0,99
Sp		0,99	Sp		0,95
VPP	$P*Se/(P*Se+(1-P)*(1-Sp))$	0,943709	VPP	$P*Se/(P*Se+(1-P)*(1-Sp))$	0,777487
VPN	$(1-P)*Sp/((1-P)*Sp+P*(1-Se))$	0,991166	VPN	$(1-P)*Sp/((1-P)*Sp+P*(1-Se))$	0,998146
P		0,1	P		0,1
Se		0,95	Se		0,99
Sp		0,99	Sp		0,95
VPP	$P*Se/(P*Se+(1-P)*(1-Sp))$	0,913462	VPP	$P*Se/(P*Se+(1-P)*(1-Sp))$	0,687500
VPN	$(1-P)*Sp/((1-P)*Sp+P*(1-Se))$	0,994420	VPN	$(1-P)*Sp/((1-P)*Sp+P*(1-Se))$	0,998832

La spectrométrie de masse en tandem (ou SM-SM) :

Il s'agit avant tout d'un mode d'acquisition des données plus sensible que le mode SIM, lui-même plus sensible que le mode FULL SCAN. Et, comme d'habitude avec toute méthode de mesure, quand on augmente la sensibilité en changeant le mode d'acquisition des données, on diminue automatiquement la spécificité (1, 3). Il y a donc un grand danger à vouloir identifier une molécule avec une spectrométrie de masse en tandem. C'est totalement déconseillé sur une solution de composition inconnue en limite de détection. Il est impossible d'identifier un composé à partir d'un seul ion et la spectrométrie de masse en tandem n'échappe pas à la règle en ne travaillant qu'avec un seul ion. La quantification est plus facile puisque la sensibilité est plus grande, certes, mais elle porte sur un ion prélevé dans un bruit de fond suivi d'une amplification et pas sur la molécule entière à identifier en concentration suffisante. C'est comme identifier un squelette à partir d'un seul os. Un fort grossissement ne changera rien au problème.

Le mode FULL SCAN enregistre tous les ions de fragmentation.

Le mode SIM enregistre en général et au plus trois ou quatre ions de fragmentation.

Le mode SRM (et MRM) en SM-SM enregistre un (ou deux ions) de fragmentation.

Le mode SRM en SM-SM est donc recommandé pour l'étude d'une fragmentation particulière, la détermination d'une structure chimique ou l'analyse des réactions métaboliques en partant d'une solution de composition parfaitement connue. Mais, en aucune manière, elle ne permet une identification certaine sur une solution de composition inconnue comme c'est le cas dans un contrôle anti-dopage. Quant au mode MRM en SM-SM, il minimise le risque d'erreur rencontré dans la SRM mais on ne sait pas exactement jusqu'à quel point en milieu biologique complexe. Heureusement, bien que la SM-SM soit extrêmement sensible, les **gammes de calibration** (4) utilisées sont bien souvent celles des modes d'acquisition SIM et FULL SCAN ce qui renvoie au problème de base le plus généralement rencontré avec une identification de la molécule faite en mode FULL SCAN ou SIM éloignée des seuils analytiques de détection les plus bas et donc effectuée avec une très grande sécurité.

Les leçons qu'il faut en tirer :

Il est de la plus haute importance de faire la distinction entre une solution de composition connue et une solution de composition inconnue. En pratique, il faut une connaissance a priori de la population dans laquelle l'échantillon est prélevé sans quoi l'interprétation du résultat est impossible au voisinage des valeurs obtenues à bas seuil (i.e. grande sensibilité) et les chances de se tromper ne sont plus de une sur un million mais de une sur deux.

Ce n'est pas la sensibilité d'une méthode qui compte mais l'hypothèse que l'on peut faire sur une consommation ou non de produit dopant à partir d'un résultat. Autrement dit, interpréter le résultat.

Comme on le voit avec les calculs, le nombre des erreurs judiciaires ou disciplinaires peut devenir rapidement considérable. Le seul moyen d'y remédier est de tenir compte de l'effet de seuil. Autrement dit, il faut remonter le seuil de décision à un niveau qui garantisse à la fois une très bonne spécificité et une très bonne sensibilité et ne pas rechercher à abaisser la limite de sensibilité (ou seuil de détection) qui conduit inmanquablement à des erreurs graves et en grand nombre.

En plus, il est de la plus haute importance de remarquer que les modes FULL SCAN, SIM et SM-SM, sont trois modes d'acquisition des données d'une même méthode qui est la fragmentation de masse connue sous le nom de spectrométrie de masse. Le pouvoir discriminant de la méthode ne change donc pas d'un mode à l'autre. Seul, la limite de sensibilité (ou seuil de détection) est déplacée (figure 1) et, lors de ce déplacement, il ampute la spécificité dont dépend la valeur prédictive positive autrement dit le diagnostic de consommation d'un médicament ou d'une substance interdite.

C'est pour cette raison que l'on se sert de plus en plus souvent des **études de population** portant sur les valeurs habituellement trouvées sur des témoins placés dans des conditions de référence. On observe alors des valeurs moyennes réelles qui serviront de repères pour déterminer ensuite les valeurs des seuils de décision plus élevées que celles des seuils analytiques de détection. Une telle démarche est évidemment conduite quotidiennement en médecine lors de n'importe quel examen diagnostique qui tient compte de valeurs dites normales qui sont par essence des valeurs de population. On ne s'intéresse alors plus à un seuil de détection mais à des **valeurs normales** beaucoup plus élevées. Le respect des valeurs normales devient un objectif et c'est aussi une manière supplémentaire de s'éloigner d'une contribution non spécifique. Les contributions des valeurs moyennes de population et des valeurs normales se rejoignent et se renforcent en toxicologie quand on recherche les valeurs normales d'une population lors de la mesure d'une concentration d'un produit que l'on n'a pas administré. Toutefois, ce travail n'est pas toujours fait et c'est ce qui rend hasardeux l'interprétation de certaines mesures par exemple dans les cheveux.

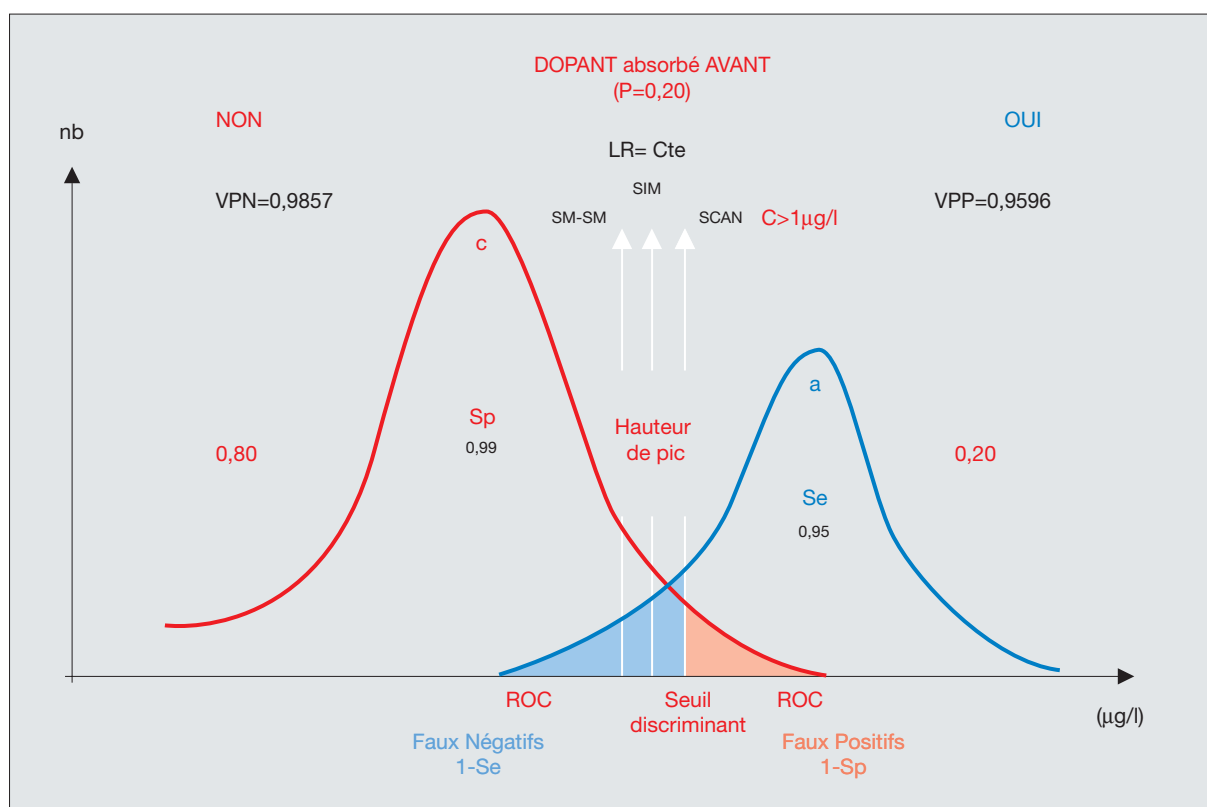


Figure 1 Déplacement du seuil de détection vers la gauche en augmentant la sensibilité de SCAN à SIM puis SM-SM.

L'obstacle de la pharmacocinétique

Il y a une autre raison qui interdit d'interpréter avec un peu trop de conviction les valeurs très basses, c'est la pharmacocinétique. Les courbes d'élimination d'une substance notamment médicamenteuse sont établies à partir d'une dose donnée et entre deux bornes, supérieure et inférieure. Si une courbe d'élimination a été établie par exemple entre 55 et 5 µg/l de sang ou d'urine, il n'est pas possible d'interpréter une valeur trouvée entre 0 et 5 µg/l sans refaire de nouvelles hypothèses, inconnues jusqu'alors (figure 2). La raison en est que personne ne connaît la courbe d'élimination du produit au-dessous de 5µg/l alors qu'il reste encore plus de 80% des molécules introduites dans l'organisme! Au-dessous de la borne inférieure, on ne sait donc pas à quand remonte une éventuelle administration du produit si administration il y a eu et dans quelles conditions. Il peut s'agir d'un relargage ou d'un résidu d'une prise ancienne voire très ancienne ou de l'alimentation etc. Il peut s'agir aussi d'aucune prise du tout si le bruit de fond n'est pas séparable. L'interprétation devient une loterie. On n'est plus dans un ordre d'erreur d'une chance sur un million mais de une sur deux !

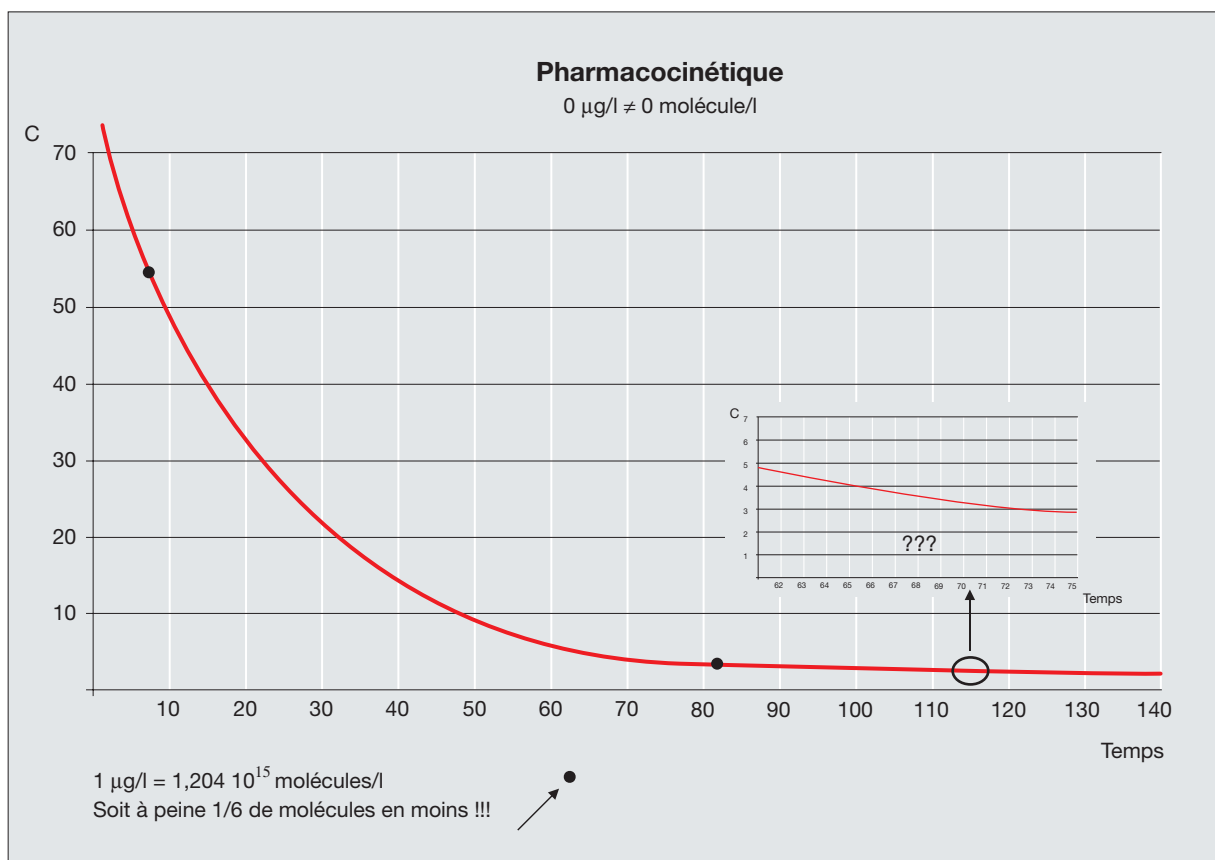


Figure 2 Un point mesuré autour de zéro et en-dehors des courbes de pharmacocinétique connues est ininterprétable bien qu'il fasse partie des 80% de molécules restantes.

Utilité des métabolites

Bien que la recherche du produit natif soit la preuve la plus écrasante, la recherche des métabolites peut aussi devenir une preuve. Par exemple, quand le THC n'est plus détectable dans le sang, son dérivé carboxylique (THC-COOH) l'est encore quelque temps dans des proportions très élevées. Et, la présence dans le sang du dérivé carboxylique indique avec certitude que le THC continue à circuler dans le sang. Il n'est plus détectable mais il circule avec certitude et ce au-dessous de son seuil de détection. Il est alors possible d'affirmer sa présence sans l'avoir identifié formellement alors que, sans cette information sur son métabolite, il serait impossible d'affirmer qu'on l'a identifié avec certitude du seul fait qu'on s'est autorisé à le quantifier avec une méthode dite très sensible. C'est d'ailleurs la recherche des métabolites qui rend aussi fiable la méthode utilisée dans les contrôles judiciaires après un accident mortel de la circulation routière quand la concentration en THC est voisine de 1 µg/l.

Les substances

Les substances endogènes sont le talon d'Achille de la recherche d'un produit dans l'organisme dont la consommation a priori est inconnue comme dans tout contrôle anti-dopage. Les exemples les plus courants sont ceux des hormones et des substances stéroïdes. Il va de soi que le diagnostic de consommation de ces substances ne peut pas être établi à la légère car l'incertitude est, dans certains cas, considérable. Heureusement, presque tout le monde le sait. Et, pour minimiser le risque d'erreur, seule la forme dite recombinante des hormones est objectivement recherchée. Et, en ce qui concerne les substances stéroïdes, seules les formes exogènes s'accompagnent d'un confort diagnostique à condition de renoncer à interpréter les concentrations des métabolites communs aux molécules déjà présentes dans l'organisme.

Le cheveu

Le problème du cheveu est celui de tout milieu biologique, comme la bile ou un organe quelconque par exemple, pour lequel il n'existe aucune courbe de pharmacocinétique décrivant au cours du temps l'apparition et la disparition d'une quantité administrée d'une substance. Il est donc impossible de savoir à quoi correspondent les concentrations retrouvées. On ne peut pas faire la part d'une éventuelle contamination d'autant que le cheveu, comme chacun sait, se comporte comme une éponge. Dans un tel cas, toute forme de contamination est toujours au moins mille fois supérieure à ce que le cheveu peut incorporer de l'intérieur de l'organisme. On sait seulement que l'administration intense et répétée d'un médicament peut s'accompagner d'une incorporation dans les cheveux mais on n'en connaît ni l'amplitude ni le mécanisme ni la proportion par rapport à toutes les formes possibles de contamination. Et, dans le cas d'une administration intense et répétée, le sang et l'urine sont bien plus informatifs que le cheveu sans compter les informations rapportées par l'enquête des autorités ou contenues dans le dossier médical. Dès lors, le cheveu n'a quasiment aucun intérêt.

Quant à l'administration isolée d'un médicament, le fait qu'on puisse retrouver dans le cheveu des concentrations très supérieures à celles observées dans un extrait sec de sang rend dubitatif. Les résultats publiés n'ont le plus souvent aucune correspondance avec la pharmacocinétique connue des mêmes produits dans le sang. Ce qui est une violation du principe élémentaire de conservation de la masse. Les autorités restent donc très circonspectes quant à l'emploi de cette matrice dans des contrôles judiciaires ou disciplinaires surtout que le cheveu, lors d'une administration isolée, n'a pas eu le temps de beaucoup pousser en quelques heures et donc d'incorporer quoi que ce soit. Il faut alors admettre que l'imprégnation ne s'est pas faite par incorporation dans les cellules germinales mais par l'extérieur du cheveu.

Conclusion

Le non spécifique est partout et à tout moment. Le seul moyen de le déjouer au moment de l'interprétation d'un résultat est d'utiliser des valeurs seuils de décision suffisamment élevées pour minimiser le risque d'erreur et surtout, en toute circonstance, **ne pas confondre signal positif et diagnostic de consommation**. Malgré cela, les faux négatifs sont et seront légion car, en plus, personne ne peut tout rechercher en même temps dans un délai relativement court. Quant aux faux positifs, ils existeront toujours et, pour les cerner, il faut accepter de revoir un résultat, de considérer d'autres indices et de répondre à d'autres questions. Les critères de diagnostic de consommation d'un produit dopant, d'un produit stupéfiant ou de n'importe quel autre produit n'ont rien d'absolu. L'erreur est possible à tout moment, par défaut comme par excès.

Des erreurs sont d'autant plus vraisemblables que de nombreux analystes sont à la recherche d'une performance qui valorise leur travail. Ils ont donc naturellement tendance à vouloir abaisser les seuils de sensibilité et leur conviction peut faire office de démonstration et remplacer la recherche de la précision. Le seul remède est de faire évoluer régulièrement la réglementation et les critères de décision au rythme des connaissances acquises et de ne pas lui donner un temps d'avance injustifié qui ne peut conduire qu'à des erreurs regrettables. Pour obtenir un résultat, il faut très peu de temps mais, pour l'interpréter, il en faut parfois beaucoup, beaucoup plus.

Il est à signaler que l'approche bayésienne est enrichie du fait qu'il existe une correspondance totale avec l'interprétation statistique traditionnelle utilisée lors des essais cliniques en médecine (4). Les risques alpha et bêta sont alors égaux respectivement à $1 - Sp$ et $1 - Se$.

Bibliographie

- (1) H. Rousset, D. Vital Durand, J.L. Dupond, Diagnostics difficiles en médecine interne, 2ème édition (1999), Maloine.
- (2) B. Grenier, Evaluation de la décision médicale, 3ème édition (1999), Masson.
- (3) E. De Hoffmann, J. Charrette, V. Stroobant, Spectrométrie de masse, 2ème édition (1999), Dunod.
- (4) M. Cucherat, S. Laporte. Quelle est la valeur prédictive d'un résultat statistiquement significatif ? Petite introduction à l'approche bayésienne, La Lettre du Pharmacologue Vol. 17 n°5 (décembre 2003).
- (5) M. Feinberg. La validation des méthodes d'analyse, (1996), Masson.

ISSN : 1293-2892
ISBN : 2-913-633-44-7
EGOPRIM
45, rue de la Glacière 75013 Paris
Dépôt légal : Juin 2005

CAHIER DE **Formation** Biologie médicale

Cahiers de formation déjà parus

- | | |
|--|--|
| N° 1 : Hématologie | N° 19 : Vaginites et vaginoses |
| N° 2 : Immunoanalyse | N° 20 : Hémostase et thrombose |
| N° 3 : Parasitologie | N° 21 : Virus des hépatites B (VHB), Delta (VDH), C (VHC), autres |
| N° 4 : Bactériologie | N° 22 : Syndrome des anti-phospholipides |
| N° 5 : Hormonologie - Gazométrie | N° 23 : Parasites sanguins |
| N° 6 : G.B.E.A | N° 24 : Biochimie pédiatrique |
| N° 7 : Immuno-allergie (1) | N° 25 : Les moisissures d'intérêt médical |
| N° 8 : Hémoglobines glyquées - Lipides | N° 26 : Immuno-hématologie et groupes sanguins |
| N° 9 : Dosage des médicaments Tome I | N° 27 : Les marqueurs cardiaques |
| N° 10 : Hématologie Cas illustrés | N° 28 : Immunoglobulines monoclonales |
| N° 11 : Amibes et flagellés intestinaux | N° 29 : Mycobactéries - Mycobactérioses |
| N° 12 : Les maladies à Prions | N° 30 : Exploration de la fonction de reproduction - versant féminin |
| N° 13 : Autoimmunité et autoanticorps | N° 31 : Les dermatophytes |
| N° 14 : L'exploration de la thyroïde | N° 32 : Les marqueurs tumoraux sériques des tumeurs solides |
| N° 15 : Dépistage de la trisomie 21 | |
| N° 16 : Immuno-allergie (2) | |
| N° 17 : Virus des hépatites A (VHA) et E (VHE) | |
| N° 18 : Dosage des médicaments Tome II | |
-

BIOFORMA est la structure nationale qui gère et organise la formation continue conventionnelle des directeurs et directeurs adjoints de L.a.b.m privés.

Cette formation continue est financée par les trois Caisses Nationales de l'Assurance Maladie (C.N.A.M.T.S., C.C.M.S.A. et C.A.N.A.M.) dans le cadre de la convention passée entre elles et les trois syndicats de biologistes (S.d.B., S.N.M.B. et S.L.B.C.).

A ce titre, BIOFORMA édite des cahiers de formation comme celui-ci.

Ces ouvrages sont distribués à chaque laboratoire d'analyse de biologie médicale, privé ou hospitalier, aux inspecteurs des DRASS, aux pharmaciens et médecins conseils des CRAM, aux responsables de la DGS et du Ministère de la Santé. Les précédents numéros sont disponibles à la consultation sur le site Internet www.bioforma.net.

Ces livres ne sont pas en vente dans le commerce et le tirage est de 6500 exemplaires.

ISSN : 1293-2892
ISBN : 2-913-633-44-7
Dépôt légal : JUIN 2005