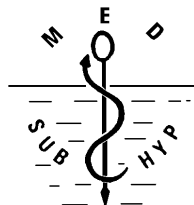


ISSN 1248 - 2846

**BULLETIN de  
MEDECINE  
SUBAQUATIQUE  
et HYPERBARE**

**2011. Tome 21. Numéro 1.**

**Société de physiologie et de médecine subaquatiques  
et hyperbares de langue française**



REVUE SEMESTRIELLE

Date de publication : juillet 2011

SOCIETE DE PHYSIOLOGIE ET DE MEDECINE  
SUBAQUATIQUES ET HYPERBARES  
DE LANGUE FRANCAISE

Déclarée le 24 Décembre 1968

J.O. du 11 Janvier 1969

PRESIDENTS HONORAIRES

Pr. J.DOR (1969-1972)

Dr. Ph. CAVENEL (1988-1991)

Pr. A. APPAIX (1972-1976)

Dr. J.C. ROSTAIN (1991-1994)

Dr. R. RISPE (1976-1979)

Pr. F. WATTEL (1994-1997)

Dr. B. BROUSSOLLE (1979-1982)

Pr J.M. SAINTY (1997-2000)

Pr. J. CORRIOL (1982-1985)

Dr J.L. MELIET (2000-2003)

Pr. Ph. OHRESSER (1985-1988)

BUREAU DE LA SOCIETE EN 2011

Président: MATHIEU, D.

Administrateurs : BARTHET, M.C.

Vice Présidents : BARTHELEMY, A.

BERGMANN, E.

GENESTAL, M.

BLATTEAU, E.

Secrétaire général : DELAFOSSE, B.

GRANDJEAN, B

Secrétaire adjoint : COULANGE, M.

PONTIER J.M.

Trésorier : LOUGE, P.

REGNARD, J.

Trésorier adjoint : HUGON, M.

RISSE, J.J.

SOUDAY, V.

.  
. .  
. .

Secrétariat: Dr. B. Delafosse, Hôpital Edouard Herriot, 69437 Lyon cedex 03

## RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

### MANUSCRIT:

Le manuscrit soumis pour publication sera adressé, à l'Editeur du Bulletin (Dr JC ROSTAIN - Physiopathologie et Action Thérapeutique des Gaz Sous Pression - UPRES - EA 3280 - Faculté de Médecine Nord - 13344 Marseille Cedex 15 -), soit en triple exemplaires, y compris les tableaux, figures, annexes et résumés (total de 9 pages maximum, sauf accord préalable) et enregistré sur une disquette au format Word (.doc) pour PC, soit de préférence adressé par courriel à [jean-claude.rostain@univmed.fr](mailto:jean-claude.rostain@univmed.fr).

Le texte sera écrit en français, en Times New Roman 12, simple interligne, texte justifié, début de paragraphe sans retrait, saut d'une ligne entre chaque paragraphe. Les pages seront numérotées de 1 à 9 dès la page de titre (pagination automatique Word). Les titres seront précédés et suivis d'un saut de ligne. Pas de ponctuation en fin de titre.

Eviter les caractères italiques et les soulignements. Seules les abréviations internationales connues peuvent être utilisées. En ce qui concerne les signes peu courants, il faudra signaler leur justification, entre parenthèses, la première fois qu'ils apparaîtront dans le texte.

Un bref résumé de l'article en français et en anglais avec un titre en anglais, sera joint au manuscrit (150 mots ou 1000 caractères espaces compris pour chacun des résumés).

Chaque manuscrit devra comporter :

- les noms exacts et les prénoms des auteurs, ainsi que leurs adresses complètes avec l'e-mail du premier auteur
- le nom et l'adresse de l'hôpital, du centre ou de l'institut où a été réalisé le travail.
- le titre et le résumé en anglais, l'introduction, les matériels et méthode, les résultats, la discussion, les références et le résumé en français.

### REFERENCES:

Les citations dans le texte se feront entre parenthèses de la façon suivante :

- 1 auteur : (Bennett 1975)
- 2 auteurs : (Rostain et Naquet 1974)
- 3 auteurs et plus : (Brauer et coll. 1974)

### Les références bibliographiques seront présentées par ordre alphabétique :

- pour un mémoire : 1/ le nom des auteurs et les initiales de leurs prénoms ; 2/ le titre intégral du mémoire dans la langue originale ; 3/ le nom du journal (abrégé selon les normes internationales) ; 4/ l'année de parution ; 5/ le tome ; 6/ la première et la dernière page
- pour un livre : 1/ le nom des auteurs et les initiales de leurs prénoms ; 2/ le titre de l'ouvrage ; 3/ le numéro d'édition à partir de la seconde édition ; 4/ le nom de la maison d'édition ; 5/ la ville ; 6/ l'année de parution ; 7/ le nombre de pages
- pour un article dans un livre : 1/ le nom des auteurs et les initiales de leurs prénoms ; 2/ le titre intégral de l'article ; 3/ le nom de l'éditeur ; 4/ le titre de l'ouvrage ; 5/ le numéro d'édition à partir de la seconde édition ; 6/ le nom de la maison d'édition ; 7/ la ville ; 8/ l'année de parution ; 9/ le nombre de pages

### Exemples

#### REVUE :

Rostain JC, Gardette B, Naquet R. Effects of exponential compression curves with nitrogen injection in man. *J Appl Physiol* 1987, 63 : 421-425.

#### LIVRE :

Jannasch HW, Marquis RE, Zimmerman AM, (eds). *Current perspectives in High Pressure Biology*. Academic Press, London. 1987, 341 p.

#### ARTICLE DANS UN LIVRE :

Rostain JC, Lemaire C, Naquet R. Deep diving, neurological problems. *In* : P. Dejours, (ed). *Comparative physiology of environmental adaptations*. Karger, Basel. 1987, p 38-47.

### ILLUSTRATIONS:

Ne fournir que des photographies sur papier, des figures et schémas aux dimensions prévues pour la publication ou des reproductions de bonne qualité sur ordinateur.

Tenir compte du degré de réduction avant de fixer la dimension des lettres figurant sur le dessin.

Les schémas et illustrations seront numérotés en chiffres arabes. Les tableaux seront notés en chiffres romains. En ce qui concerne la radiologie, ne fournir que d'excellents tirages sur papier.

Dactylographier sur une feuille à part les légendes des figures. Légendes et figures sont à envoyer séparées du texte.

**SOMMAIRE**

- FONCTION ENDOTHELIALE INDUITES PAR L'IMMERSION.  
K AYME, A BOUSSUGES, M COULANGE, O GARGNE, O GAVARRY, Y GOLE. 1 – 9.
- MICROPARTICULES ET PHENOMENE BULLAIRE LORS DE LA DECOMPRESSION EN  
PLONGEE SOUS-MARINE.  
JM PONTIER, E GEMPP. 11 - 18.
- QU'EN EST-IL DES ACCIDENTS DE DECOMPRESSION CHEZ LES CETACES ?  
L BARTHELEMY . 19 – 25.

**BULLETIN de MEDECINE SUBAQUATIQUE et HYPERBARE**  
**2011. Tome 21, numéro 1.**

Dépôt légal : 7 avril 2011

ISSN 1248 - 2846

Responsable de la rédaction  
B. Delafosse,

Directeur de la publication  
J.C. Rostain

Imprimeur  
Pronto Offset, 22 Chem. St Jean du Desert, 13005 Marseille

Editeur  
Société de physiologie et de médecine subaquatiques et hyperbares  
de langue française  
Centre Hyperbare, CHU de Sainte Marguerite  
270 Bd de Ste Marguerite  
13274 Marseille cedex 09

Date de publication : juillet 2011



# ETUDE DES MODIFICATIONS DE LA FONCTION ENDOTHELIALE INDUITES PAR L'IMMERSION.

K. AYME<sup>1</sup>, A. BOUSSUGES<sup>1</sup>, M. COULANGE<sup>1,2</sup>, O. GARGNE<sup>1</sup>, O. GAVARRY<sup>3</sup>, Y. GOLE<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Université de la méditerranée et IRBA, UMR-MD2 –PPCOE, Faculté de Médecine Nord 13344 Marseille cedex 15. <sup>2</sup>Pôle RUSH, Assistance Publique Hôpitaux de Marseille, CHU Sainte Marguerite, 13008 Marseille. <sup>3</sup>UFR STAPS, Université du Sud Toulon Var, Toulon (France).

## ABSTRACT

**Alterations of endothelial function induced by water immersion. K Ayme, A Boussuges, M Coulange, O Gargne, O Gavarry, Y Gole. Bull. Medsubhyp, 2011, 21, 1 : 1 – 9.**

Water immersion induces a relative hypervolemia, increasing cardiac preload and central venous pressure. Cardiac output is therefore greater, generating an increase of peripheral perfusion. This stimulates the control systems of vascular tone, shown by lower peripheral vascular resistances.

The endothelial cell is able, when activated by an increase of shear stress, to secrete vasoactive substances like nitric oxide, inducing a relaxation of smooth muscle.

Due to the higher peripheral perfusion, shear stress could be increased by immersion, thus activating endothelial function and contributing to the peripheral vasorelaxation.

We tested whether immersion, through the peripheral hyperperfusion, stimulates endothelium, and if endothelial cell reactivity ("endothelial function") is affected by immersion.

We performed an high-resolution ultrasound imaging study of brachial artery on 12 healthy young volunteers, at rest, in the seated position, in thermoneutral conditions. For each subject, we compared headout immersion an ambient air. We estimated the changes in artery dimensions at rest, reactivity of endothelium to a post-ischemic hyperhemic stimulus ("flow-mediated dilation FMD") and reactivity of smooth muscle to nitroglycerine, an exogenous donor of nitric oxide.

We show that thermoneutral headout water at rest induces a vasodilation of brachial artery, partly caused by the stimulation of endothelial cell. Nor endothelium reactivity to hyperhemia nor smooth muscle function are altered by immersion.

These results support the benefit of practising cardiovascular rehabilitation in water for diseases in which an endothelial dysfunction is implied (hypertension, atherosclerosis). They could also be used as a reference to further studies on endothelial function in immersed exercise. Such studies would provide a better knowledge of scuba divers pulmonary oedema, whose physiopathology remains little known.

En immersion, la pression exercée par l'eau sur la surface corporelle induit des modifications importantes du système cardiovasculaire. Son effet principal est une augmentation du débit cardiaque de près de 20%, responsable d'un hyper débit périphérique qui active les systèmes de régulation physiologiques du tonus vasculaire. L'intensité des modifications physiologiques induites peut provoquer la décompensation d'une cardiopathie préexistante. Chez le sujet sain, des œdèmes pulmonaires ont été rapportés chez le nageur et chez le plongeur en apnée ou en scaphandre autonome. On regroupe ces accidents sous le vocable œdème pulmonaire d'immersion. Inversement, des conséquences bénéfiques de l'immersion sont également évoquées et les exercices en piscine sont régulièrement utilisés dans le cadre de la rééducation cardiaque.

L'explication de ces effets bénéfiques et délétères

reste partielle. L'implication de l'endothélium vasculaire, qui régule localement le tonus du muscle lisse vasculaire, est souvent évoquée. Un travail récent réalisé chez des malades porteurs d'affections cardiaques montre qu'un programme de rééducation intégrant des exercices immergés s'accompagne d'une amélioration de la fonction endothéliale plus importante que lorsque les exercices sont réalisés en ambiance sèche. (Mourot 2009)

Nous avons testé les hypothèses suivantes au moyen d'une étude échographique de l'artère brachiale réalisée chez des sujets au repos, immergés tête hors de l'eau dans un bain à thermoneutralité:

- L'endothélium est sollicité par l'hyperdébit périphérique et participe à la diminution des résistances vasculaires systémiques observées.

- La réactivité de l'endothélium est modifiée en

immersion.

## CONNAISSANCES ACTUELLES

Le tonus du muscle lisse vasculaire est régulé en permanence, à distance par le système nerveux végétatif orthosympathique et des modifications de la sécrétion des catécholamines et du système Rénine-Angiotensine. Localement, le tonus est modulé de manière fine par des médiateurs sécrétés par les cellules endothéliales (« fonction endothéliale »). Le monoxyde d'azote est responsable des deux tiers de la vasorelaxation endothélium-dépendante. (Lieberman 1996)

En immersion, la pression de l'eau sur la surface corporelle exerce une contention des vaisseaux périphériques à paroi souple responsable d'une redistribution de la masse sanguine au profit de la circulation centrale. (Lin 1984, Gabrielsen 1993, Miki 1986) L'augmentation de la précharge cardiaque génère un meilleur remplissage des cavités ventriculaires et secondairement une augmentation du volume d'éjection systolique et du débit cardiaque. (Christie 1990, Gabrielsen 2000) Malgré l'augmentation du débit artériel périphérique, la pression artérielle reste stable, du fait d'une diminution des résistances vasculaires systémiques et d'une augmentation de la compliance artérielle. (Boussuges 2006, Gabrielsen 2000, Mourot 2009)

L'élévation du débit cardiaque induite par l'immersion active les mécanismes régulateurs de la pression artérielle. (Dyson 2006, Gabrielsen 2000, Miwa 1997, Mourot 2009, Norsk 1990, Wiesner 2010) Parmi ces systèmes de régulation, l'augmentation du débit sanguin périphérique est susceptible de stimuler l'endothélium vasculaire. Les forces d'étirement exercées sur les parois vasculaires (le shear stress) pourraient être accrues en ambiance immergée et générer une augmentation de la production des facteurs de relaxation d'origine endothéliale, participant à la baisse des résistances vasculaires systémiques.

## MATERIEL ET METHODE

L'étude a été réalisée chez 12 sujets de sexe masculin (âge moyen 34 +/-8 ans, poids 70 +/- 12 kg et taille 175 +/-6 cm), volontaires sains

(indemnes de pathologies neurologiques, cardio-vasculaires et respiratoires). Chaque volontaire a répondu à un questionnaire de santé, a été examiné par un médecin et a signé librement un consentement écrit afin d'être inclus dans le protocole d'étude. L'étude a été réalisée dans un site agréé pour la recherche sans bénéfice individuel direct après approbation du comité d'éthique local. Les mesures ont été faites à distance des repas (plus de trois heures). En outre, aucun des participants n'avait consommé de la caféine ou n'avait fumé durant les 12 heures précédant l'étude.

Les explorations cardio-vasculaires ont été effectuées après un repos d'au moins 15 minutes, dans une salle calme à température ambiante stable comprise entre 28 et 29°C. Les sujets étaient en position assise, le bras étudié en rotation externe et en abduction. L'étude a été réalisée, deux jours distincts, dans deux conditions dont l'ordre était randomisé: à l'air ambiant et en immersion tête hors de l'eau. La température du bain était régulée entre 34 et 35°C. Les mesures et leur chronologie étaient identiques en immersion et à l'air.

Les volontaires ont été pesés après vidange de la vessie avant et après chaque session. La diurèse a été quantifiée. La température centrale a été mesurée avant et après chaque série de mesures, à l'aide d'un thermomètre électronique rectal

## PARAMETRES HEMODYNAMIQUES

La fréquence cardiaque a été recueillie en continu durant vingt minutes grâce à un holter rythmique chez le sujet au repos, 15 minutes après le début du protocole. Une valeur moyenne a été calculée à partir de cet enregistrement.

Les pressions artérielles périphériques, systolique, diastolique et moyenne, ont été recueillies au bras grâce à un appareil d'automesure validé par les sociétés internationales (British hypertension society BHS et Association for the Advancement of Medical Instrumentation AAMI) de type Omron M7 (Omron Healthcare Co, Ltd, Kyoto, Japon).

La pression artérielle centrale a été estimée à partir de l'analyse de l'onde de pouls radiale recueillie par un tonomètre à aplanation de type sphygmocor (Atcor). (Mackenzie 2002)

## ETUDE ECHOGRAPHIQUE

Les explorations ont été réalisées grâce à un appareil d'échographie Doppler de type Mylab 30CV (Esaote, Genoa, Italie). Pour l'étude de la



circulation artérielle brachiale la sonde était linéaire avec une fréquence de 18 MHz, elle était convexe et de fréquence 2.5MHz pour l'étude échocardiographique.

Les explorations ont été systématiquement enregistrées sur le disque dur de l'appareil et les mesures ont été réalisées dans un second temps ce qui permettait de limiter la durée des explorations échographiques.

## ARTERE BRACHIALE

### -Circulation artérielle brachiale de référence

Le diamètre de l'artère brachiale a été mesuré sur une incidence échographique longitudinale, à une profondeur de 4 cm, à environ 7 cm en amont de la fossette antécubitale du membre supérieur. Le diamètre diastolique de l'artère brachiale c'est-à-dire la distance entre l'intima du mur antérieur et celle du mur postérieur du vaisseau, a été mesuré au pic de l'onde R de l'électrocardiogramme. Au minimum, 3 mesures successives ont été réalisées et le diamètre moyen a été calculé. Le flux Doppler de l'artère brachiale a été recueilli sur le même site. En utilisant un angle maximal entre la sonde et la peau ainsi qu'un angle Doppler incliné de 20°, l'angle complémentaire permettant d'aligner le tir Doppler et le flux était inférieur à 60° dans tous les cas. L'étude du flux par le doppler permet d'évaluer la perfusion, en calculant le volume sanguin éjecté par systole (Vol syst). En effet, le Vol syst est mesuré à partir de l'aire sous la courbe du flux sanguin Doppler (intégrale temps vitesse VTI) et du diamètre brachial, par la formule  $Vol\ syst = S_{AB} * ITV$  (avec  $S_{AB}$  surface de section du vaisseau, estimée par la formule  $S_{AB} = 3,14\ d^2 / 4$ ). La fréquence cardiaque a été mesurée à partir de l'intervalle RR du cycle cardiaque précédent le flux brachial.

Le débit brachial a été calculé à partir des données combinées de la mesure du diamètre artériel en échographie bi-dimensionnelle et du recueil du flux Doppler pulsé au même niveau. Le débit artériel brachial ( $Q_r$ ) est calculé par la formule  $Q_r = Vol\ syst * Fréquence\ Cardiaque\ (FC)$ .

### -Exploration de la fonction endothéliale

Nous avons étudié la fonction endothéliale grâce à une épreuve de vasodilatation induite par l'hyperhémie (« Flow mediated dilation FMD »). Cette épreuve sollicite spécifiquement l'endothélium. L'hyperhémie est obtenue par la levée d'une ischémie de 5 minutes. Nous avons appliqué les recommandations émises dans un guide de bonne pratique de la FMD. (Coretti 2002)

Les mesures ont été faites sur l'artère brachiale. Avant l'épreuve, nous avons mesuré le diamètre de référence  $d_{ref}$  et le flux doppler, suivant la procédure décrite dans le chapitre précédent. Un brassard a ensuite été placé sur le bras et gonflé 50 mmHg au-dessus de la pression artérielle systolique. Après 5 minutes d'inflation au cours desquelles la sonde d'échographie a été laissée en place, le brassard a été rapidement dégonflé. Le flux doppler a été recueilli 15 secondes après la déflation afin de quantifier l'hyperhémie ( $ITV_{hyperhémie}$ ). Le diamètre vasculaire a été mesuré à nouveau sur une vue longitudinale, une minute après la déflation, pour quantifier la vasodilatation secondaire à l'hyperhémie ( $d_{FMD}$ ).

La vasodilatation induite par l'hyperhémie (FMD) a été obtenue par la différence entre le diamètre maximal mesuré après la déflation du brassard et le diamètre initial de l'artère.

Elle est exprimée en valeur absolue ( $d_{FMD} - d_{ref}$ ) et en pourcentage  $(d_{FMD} - d_{ref}) / d_{ref}$ . La contrainte exercée par l'hyperhémie sur la paroi de l'artère (Shear Rate - SR) a également été évaluée à l'aide du rapport entre le pourcentage d'augmentation du flux Doppler sur la surface de l'artère brachiale mesurée avant l'épreuve, soit la formule  $SR = (ITV_{hyperhémie} - ITV_{ref}) / (ITV_{ref} * Surf\ AB)$ . Afin de normaliser l'importance de la vasodilatation en fonction de la stimulation secondaire à l'hyperhémie le rapport FMD/ SR a également été calculé.

### -Etude du muscle lisse vasculaire :

Dix minutes après la levée de l'ischémie (FMD), durée estimée pour dissiper les effets de l'hyperhémie et revenir au calibre brachial de base (Coretti 2002), nous avons effectué une mesure du diamètre longitudinal au pic de l'onde R et un recueil du flux Doppler au bras. Nous avons ensuite administré deux bouffées sublinguales de trinitrine, donneur exogène de monoxyde d'azote. Quatre minutes après (délai pour obtenir la vasodilatation maximale), nous avons à nouveau mesuré, sur le même site, le diamètre longitudinal au pic de l'onde R et recueilli le flux doppler.

## ECHOCARDIOGRAPHIE

### -Dimensions des cavités cardiaques et de la veine cave inférieure :

Afin d'estimer les variations de précharge cardiaque en fonction de la condition (ambiance sèche ou immergée), nous avons mesuré les dimensions des cavités cardiaques et de la veine

cave inférieure.

#### **-Débit cardiaque**

Le débit cardiaque a été calculé à partir des données du Doppler aortique combinées à la mesure du diamètre aortique par l'échographie cardiaque (étude bidimensionnelle, coupe parasternale). (Huntsman 1983) Une sonde Doppler transcutanée (Doppler continu de 2Mhz) a été positionnée sur la fourchette sternale afin de recueillir le flux de l'aorte ascendante. Nous avons mesuré la vitesse maximale systolique (VMax) et l'intégrale temps vitesse (ITV) du flux aortique. Le volume d'éjection systolique et le débit cardiaque ont été calculés selon la méthode décrite pour le débit brachial.

#### **-Résistances vasculaires systémiques :**

Les Résistances vasculaires systémiques (RVS) ont été calculées par le rapport PA moyenne/débit cardiaque.

#### **ANALYSE STATISTIQUE**

Les résultats sont présentés en moyenne  $\pm$  écart-type. L'analyse statistique des données a été réalisée avec le logiciel Sigma Stat Software (Version 3.00) (SPSS Inc, Chicago, USA).

Nous avons réalisé pour chaque sujet deux séries de mesure : une en air ambiant et une en immersion tête hors de l'eau. La comparaison des variables a par conséquent fait appel à des tests pour séries appariées. La normalité de la distribution des variables étudiées a été préalablement vérifiée par le test de Kolmogorov-Smirnov. Lorsque la distribution des variables était normale, un test t de Student pour séries appariées a été utilisé. Lorsque les valeurs n'étaient pas réparties de façon normale, le test des rangs appariés de Wilcoxon a été employé. Le seuil de significativité retenu était  $p < 0.05$ .

## **RESULTATS**

### **ETUDE PRELIMINAIRE**

La température centrale est restée stable et il n'y a pas de différence entre les températures mesurées en ambiance sèche et en immersion ( $p=0,9$ ). La diurèse induite par l'immersion est significativement plus importante ( $370 \pm 160$ ml) qu'en ambiance sèche ( $187 \pm 128$ ml) ( $p<0,05$ ). Les pressions artérielles brachiales systolique (respectivement  $111 \pm 12$  mmHg en air ambiant

et  $102 \pm 9$  mmHg en immersion,  $P<0,05$ ) et moyenne (respectivement  $81 \pm 9$  et  $74 \pm 5$  mmHg,  $P<0,05$ ) sont diminuées en immersion. Les pressions pulsée (respectivement  $45 \pm 14$  et  $42 \pm 10$ ,  $p=0.3$ ) et diastolique (respectivement  $66 \pm 11$  et  $60 \pm 6$ ,  $p= 0.1$ ) ne sont pas significativement modifiées. La pression artérielle centrale (aortique) pulsée, mesurée par le sphygmocor, n'est pas modifiée par l'immersion ( $28 \pm 6$  et  $29 \pm 4$ ,  $p=0.8$ ).

La fréquence cardiaque moyenne mesurée durant 20 minutes grâce à l'enregistrement holter n'est pas modifiée par l'immersion (respectivement  $63 \pm 8$ bpm et  $60 \pm 7$  bpm,  $p=0.1$ ).

Dans l'étude échocardiographique, on observe une augmentation significative du diamètre de l'oreillette gauche ( $27 \pm 5$  mm en air ambiant, contre  $30 \pm 4$  mm en immersion,  $p=0.01$ ) et du diamètre télé diastolique du ventricule gauche ( $47 \pm 3$  mm contre  $48 \pm 2$  mm,  $P<0,05$ ), alors que le diamètre télé systolique du VG n'est pas modifié ( $28 \pm 2$  mm, contre  $29 \pm 2$ ,  $p=0.7$ ). Le diamètre de la veine cave inférieure est significativement supérieur en immersion ( $16 \pm 2$ mm, contre  $20 \pm 3$ ,  $P<0,05$ ).

L'étude des variables hémodynamiques par le doppler aortique montre une augmentation de 23% du VES en immersion ( $61.4 \pm 11.7$  mL en air ambiant, pour  $79.6 \pm 20.6$  mL en immersion,  $p=0.01$ ) et une diminution modérée, non significative, de la FC. Il en résulte une augmentation significative du débit cardiaque (+18%) ( $3.5 \pm 0.8$  L/min. pour  $4.4 \pm 1.3$ ,  $P< 0.05$ ). Les résistances vasculaires systémiques (RVS) sont diminuées ( $1671 \pm 274.5$  mmHg/L/min. pour  $1447.2 \pm 199$ ,  $P< 0.05$ ).

### **ETUDE VASCULAIRE PERIPHERIQUE**

Le calibre brachial est significativement augmenté en immersion, ainsi que la perfusion évaluée par le volume sanguin éjecté par systole (Vol syst).

Cette augmentation importante du Vol syst est parallèle à une stabilité de la FC. Le débit sanguin brachial est donc augmenté en immersion et au sec. (tableau 1)

La pression artérielle mesurée au membre supérieur diminue en immersion malgré l'augmentation du débit brachial. Ces données confirment la diminution des résistances vasculaires périphériques. (cf. chapitre précédent).

## Endothélium et immersion

|                         | Air         | Immersion    | Stat    |
|-------------------------|-------------|--------------|---------|
|                         | Mean +/- SD |              |         |
| Diamètre brachial (mm)  | 3,7 +/- 0,7 | 4 +/- 0,7    | P=0,001 |
| VTI bras (cm)           | 6,6 +/- 2   | 10 +/- 4     | P<0,05  |
| Vmax bras (cm/s.)       | 58 +/- 17   | 78 +/- 27    | P<0,05  |
| Vol syst (mL)           | 1,4 +/- 0,8 | 2,4 +/- 1,3  | P<0,05  |
| FC RR (ms)              | 953 +/- 114 | 1002 +/- 130 | P=0,2   |
| Debit brachial (mL/min) | 93 +/- 52   | 147 +/- 89   | P<0,05  |

Tableau 1: Etude de la circulation artérielle brachiale

L'étude de la fonction endothéliale (tableau 2) montre que la levée de la compression par le brassard s'accompagne, quelle que soit la condition (ambiance sèche et immergée), d'une augmentation importante du flux brachial. A la quinzième seconde, le VTI du spectre Doppler du flux brachial est mesuré à 22 +/- 12 cm en ambiance sèche et à 23 +/- 12 cm en immersion (pas de différence significative).

Le diamètre maximal de l'artère brachiale, 1 minute après la levée de la compression est mesuré à 4,1 +/- 0,6 cm en ambiance sèche et à 4,2 +/- 0,6 en immersion (pas de différence significative). Néanmoins, le diamètre de l'artère brachiale étant plus important en immersion, l'augmentation de calibre artériel apparaît significativement plus faible en immersion par rapport au sec (+9 vs +15%).

Afin d'apprécier les contraintes exercées sur l'artère brachiale lors de l'hyperhémie le rapport entre le pourcentage d'augmentation du flux sur la surface de l'artère brachiale mesurée avant la compression (SR = Shear rate) a été calculé. La contrainte semble moins importante lors de l'immersion et la différence est à la limite de la significativité. La vasodilatation induite par l'hyperhémie a par conséquent été normalisée en fonction de la sollicitation (%FMD/ SR). La comparaison des FMD normalisées ne montre plus de différence significative ce qui est en faveur d'une réactivité endothéliale identique en ambiance sèche et immergée.

|                                 | Air         | Immersion   | Stat     |
|---------------------------------|-------------|-------------|----------|
|                                 | Mean +/- SD |             |          |
| Diamètre brachial pré-FMD (mm)  | 3,6 +/- 0,7 | 3,9 +/- 0,6 | P<0,05   |
| Diamètre brachial post-FMD (mm) | 4,1 +/- 0,6 | 4,2 +/- 0,6 | P=0,3    |
| Augmentation de diamètre (%)    | 15 +/- 7    | 9 +/- 6     | P=0,01   |
| SR = % aug VTI/ Surf brachiale  | 65 +/- 16   | 35 +/- 5    | P = 0,07 |
| FMD % / SR (10 <sup>3</sup> )   | 3,9 +/- 1   | 4,8 +/- 1   | P=0,3    |

Tableau 2 : Etude de la fonction endothéliale

L'étude du muscle lisse vasculaire montre que l'augmentation de diamètre de l'artère brachiale induite par l'administration de trinitrine est comparable en ambiance sèche et en immersion, que le résultat soit exprimé en valeur absolue ou en pourcentage. (tableau 3)

|                                 | Air         | Immersion   | Stat     |
|---------------------------------|-------------|-------------|----------|
|                                 | Mean +/- SD |             |          |
| Diamètre brachial pré-TNT (mm)  | 3,7 +/- 0,7 | 4,1 +/- 0,7 | P< 0,05  |
| Diamètre brachial post-TNT (mm) | 4,4 +/- 0,7 | 4,7 +/- 0,6 | P< 0,05  |
| augmentation de calibre         |             |             |          |
| Absolue (mm)                    | 0,7 +/- 0,4 | 0,6 +/- 0,2 | P= 0,649 |
| Relative (%)                    | 21 +/- 15   | 15 +/- 6    | P=0,599  |

Tableau 3 : Etude du muscle lisse vasculaire

## DISCUSSION

En accord avec notre hypothèse, les modifications de l'hémodynamique systémique secondaire à l'immersion s'accompagnent de modifications de la circulation artérielle périphérique.

Nous observons dans notre étude échographique, une vasodilatation artérielle brachiale. Elle pourrait être secondaire à la sollicitation endothéliale induite par l'augmentation du débit artériel périphérique.

La réactivité endothéliale est moins importante en immersion qu'en ambiance sèche. Cependant, cette différence s'explique par une hyperhémie insuffisante pour générer une sollicitation de la paroi vasculaire de même importance qu'en ambiance sèche, en raison de la vasodilatation préalable, induite par l'immersion.

Enfin, la réactivité du muscle lisse vasculaire aux vasodilatateurs exogènes est comparable dans les deux conditions.

Dans notre travail, l'étude de l'hémodynamique systémique, indispensable à l'interprétation des modifications périphériques, est conforme aux connaissances actuelles.

Nos résultats montrent une augmentation importante (23%) du volume d'éjection systolique du ventricule gauche, qui, couplé à une stabilité ou à une diminution faible de la fréquence cardiaque, explique une majoration du débit cardiaque de 18%. Ce phénomène, déjà démontré auparavant, découle des modifications hémodynamiques induites par la pression élevée de l'eau sur la surface cutanée. Une contention s'exerce sur les vaisseaux périphériques à paroi souple, provoquant

dès l'entrée dans l'eau une redistribution des volumes sanguins au bénéfice de la circulation thoracique. Le transfert de masse sanguine se fait aux dépens du réservoir veineux périphérique et au bénéfice de la circulation centrale. (Lin 1984, Gabrielsen 1993, Miki 1986) Après quinze minutes d'immersion, se surajoute une augmentation du volume plasmatique. En effet, la pression hydrostatique, transmise au versant adventiciel des vaisseaux, provoque un transfert de liquide de l'espace interstitiel vers la lumière vasculaire. (Miki 1986) Enfin, en immersion tête hors de l'eau, la pression dans les capillaires alvéolaires est identique à la pression atmosphérique, alors que celle exercée sur les vaisseaux extra-thoraciques qui dépend de la pression hydrostatique, est augmentée. Ce gradient de pression majore la redistribution volémique vers les vaisseaux intra-thoraciques.

L'augmentation de la précharge cardiaque génère une majoration du volume d'éjection systolique et du débit cardiaque. (Christie 1990, Gabrielsen 2000) Notre étude est en accord avec cette interprétation, puisque nous avons observé une augmentation nette des dimensions de la veine cave inférieure, de l'oreillette gauche et du diamètre diastolique du ventricule gauche.

La fréquence cardiaque apparaît non significativement ralentie quelle que soit la méthode de mesure (mesurée par le holter rythmique durant 20 min, ou lors des mesures de FC instantanées (intervalles RR) lors des études Doppler aortique et Doppler brachial). Des résultats similaires ont été rapportés dans d'autres études en immersion à thermoneutralité en position assise. (Gabrielsen 2000, Christie 1990, Miwa 1997) Les mécanismes régulateurs de la fréquence cardiaque sont probablement mis en jeu en immersion, puisque la majoration de la précharge et du débit cardiaque provoque un étirement des parois vasculaires qui stimule les récepteurs cardio-pulmonaires et les barorécepteurs artériels. Il en découle théoriquement une augmentation du tonus parasympathique à destination cardiaque, qui oriente la fréquence cardiaque à la baisse. (Gabrielsen 2000) En outre, le contrôle neurovégétatif du tonus vasomoteur est également modifié et se traduit par une diminution de l'activité orthosympathique à destination du muscle lisse vasculaire. (Dyson 2006, Gabrielsen 2000)

Les modifications de la circulation artérielle pourraient expliquer l'absence de ralentissement

significatif de la fréquence cardiaque. En effet, dans notre étude la baisse significative de la pression artérielle en immersion suggère que la chute des résistances artérielles périphériques n'est pas attribuable à un mécanisme adaptatif unique tel que la sollicitation de l'arc baroréflexe. L'action de l'immersion sur la paroi endothéliale pourrait expliquer la majoration de la vasodilatation. Cette forte vasodilatation est un frein au déplacement du contrôle neurovégétatif de la fréquence cardiaque au bénéfice du para-sympathique car elle génère une augmentation de l'activité orthosympathique.

En immersion, nous observons une augmentation du calibre de l'artère brachiale, dont le diamètre passe en moyenne de 3,7 à 4 mm. Une augmentation du débit artériel brachial est également constatée. Il est probable que cette hyperperfusion brachiale majore les forces de cisaillement (shear stress), et active la cellule endothéliale. (Green 2004) Des substances localement actives sur le muscle lisse vasculaire sont libérées, dont le chef de file est le monoxyde d'azote NO, synthétisé par la NO-synthase endothéliale.

Si les effets de l'immersion au repos sur la fonction endothéliale n'ont pas à notre connaissance fait l'objet de publications, il est prouvé que l'exercice physique, qui provoque comme l'immersion, une hyperperfusion périphérique par augmentation du débit cardiaque, est responsable d'une augmentation de la biodisponibilité de l'oxyde nitrique. (Higashi 2004) En outre, des exercices d'intensité modérée, répétés en immersion augmentent le taux plasmatique de dérivés du NO de façon plus importante que lorsque l'exercice est effectué en ambiance sèche. (Mourot 2009) Ces données vont dans le sens d'une activation de la cellule endothéliale en immersion. La modification de sécrétions neuro-humorales pourrait également être impliquée dans la vasodilatation induite par l'immersion. La libération de peptides natriurétiques secondaire à la distension des cavités cardiaques a été rapportée. (Norsk 1990, Miwa 1997, Gabrielsen 2000) Une diminution de l'activité du système rénine-angiotensine-aldostérone a également été observée. (Gabrielsen 2000) Leur part respective dans la vasodilatation observée n'est pas connue. Le dosage plasmatique des différents médiateurs impliqués (dérivés du monoxyde d'azote tels que nitrates et nitrites, Peptides Natriurétiques, Rénine Plasmatique,

catécholamines, ...) serait intéressant pour l'établir.

Enfin, nos données sur la température confirment que l'étude a bien été faite à thermoneutralité, puisque la température centrale est comparable dans les deux conditions, et reste stable du début à la fin de l'étude. Néanmoins, en immersion dans un bain de température voisine de 34°C, la température cutanée des zones immergées se rapproche de la température de l'eau. A l'air, les températures cutanées sont différentes en fonction de la localisation mais sont plus basses, autour de 30°C pour les membres par exemple. Cette différence a pu contribuer de façon importante aux différences de perfusion régionales observées en fonction de la condition (sèche ou immergée).

Nous avons également comparé la réponse vasculaire induite par l'hyperhémie en immersion et à l'air ambiant. Ce test sollicite spécifiquement l'endothélium et génère la libération de médiateurs vasodilatateurs. Dans les deux conditions (ambiance sèche et immergée), la levée de la compression provoque une hyperhémie (augmentation de l'aire sous la courbe du flux doppler vasculaire VTI) et une vasodilatation. Néanmoins le pourcentage d'augmentation du diamètre vasculaire est plus faible en immersion. Ce résultat pourrait s'expliquer par une diminution de la réactivité endothéliale en immersion. Néanmoins, la vasodilatation induite par ce test est le résultat des contraintes exercées sur la paroi par le flux d'hyperhémie (shear rate» SR). La variation de calibre vasculaire dépend directement de l'intensité de l'hyperhémie. (Silber 2004, Thijssen 2009, Thijssen 2008) Il apparaissait donc important d'estimer le SR induit par la levée de la compression en ambiance sèche et immergée. Afin d'estimer le SR nous avons utilisé le pourcentage d'augmentation de l'ITV du flux Doppler induit par l'hyperhémie rapporté à la surface de section du vaisseau. (Nishyama 2007, Silber 2004, Thijssen 2009, Thijssen 2008, Padilla 2008) Le SR est plus élevé en ambiance sèche par rapport à l'immersion bien que la différence soit à la limite de la significativité ( $p=0.07$ ). Par rapport à la contrainte exercée par le flux sur la paroi avant le test, lors de la levée de la compression le SR augmente de 227% en air ambiant contre 107% en immersion ( $p=0,045$ ). La levée de l'ischémie induit donc une majoration de la force exercée par le flux sur la paroi vasculaire nettement moins importante en immersion qu'en air ambiant. Cette différence de contrainte s'explique par le diamètre

de base (avant ischémie) de l'artère brachiale plus grand en immersion par rapport au sec. L'augmentation du flux secondaire à l'ischémie exerce une contrainte moins importante sur un vaisseau de plus grand diamètre. Ce constat a préalablement été fait et explique que lors d'un test d'hyperhémie, le pourcentage de dilatation d'une artère soit moins important sur les artères de gros calibres (artère fémorale ou poplitée) que sur celles de plus faibles calibres. Il est malgré tout possible que la plus faible réponse dilatatrice post-ischémique soit due à la fois à une stimulation plus faible et à une réactivité moindre de l'endothélium en immersion. Pour distinguer l'influence de la réactivité endothéliale de l'influence du SR, il est proposé de normaliser la variation de calibre induite par l'hyperhémie par l'intensité du stimulus hyperhémique (ratio FMD/SR). (Thijssen 2008, Padilla 2008, Nishyama 2007) Dans notre étude, ce ratio est comparable à l'air et en immersion ( $p=0.8$ ), ce qui est en faveur d'une réactivité endothéliale non altérée en immersion.

En parallèle, nous avons constaté que la vasodilatation induite par la trinitrine (apport exogène de monoxyde d'azote), qui teste spécifiquement la réponse du muscle lisse (Coretti 2002), est comparable dans les deux conditions. Dans ce test, la variation de calibre est indépendante de la sollicitation de l'endothélium. (Coretti 2002) La similitude de réponse dans les deux conditions confirme le fait que la différence de réponse artérielle à la FMD entre air ambiant et immersion est bien liée à un effet sur la cellule endothéliale, et pas à une réactivité différente du muscle lisse.

En résumé, l'immersion génère une relaxation vasculaire basale, en partie due à la sollicitation endothéliale par l'hyperdébit périphérique. La fonction musculaire lisse est préservée. La vasodilatation induite par l'hyperhémie est diminuée en immersion. Néanmoins, la contrainte exercée par le flux hyperhémique post-ischémique sur l'endothélium est plus faible en immersion. C'est donc une stimulation moindre de l'endothélium par le flux post-ischémique qui explique ce résultat. La réactivité de la cellule endothéliale n'est pas altérée par l'immersion.

## LIMITES

Il aurait été intéressant de tester la fonction endothéliale par plusieurs méthodes en parallèle,

afin de favoriser la comparabilité avec les études déjà réalisées et d'affiner l'interprétation des résultats. Il est possible de mesurer des marqueurs biologiques comme les dérivés du monoxyde d'azote, nitrites et nitrates. (Mourot 2009) La mesure conjointe de la variation des taux d'adrénaline et noradrénaline permettrait d'évaluer la part respective des différents mécanismes de régulation dans la vasodilatation artérielle induite par l'immersion. L'utilisation d'autres méthodes fonctionnelles comme l'étude de la vitesse de l'onde pouls par un tonomètre à aplation (sphygmocor (Alam 2005)) est également possible, bien que peu utilisée en pratique.

Dans une étude ultérieure, il serait utile d'évaluer la contribution respective des mécanismes de régulation périphérique (fonction endothéliale) et centrale (régulation neuro-hormonale) dans la vasorelaxation induite par l'immersion. Le dosage plasmatique des dérivés du monoxyde d'azote (nitrates et nitrites), des peptides natriurétiques, de la rénine plasmatique et des catécholamines serait intéressant pour l'établir.

Un enregistrement continu des températures cutanées au moyen de capteurs pourrait participer à l'interprétation des différences de perfusion régionale observées en fonction de la condition (air ambiant ou immersion).

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Notre étude montre que l'immersion s'accompagne d'une stimulation de l'endothélium. La cellule endothéliale semble intervenir dans la relaxation musculaire lisse périphérique observée en réponse à l'augmentation des flux sanguins périphériques générés par l'immersion. La réactivité endothéliale à un stimulus hyperhémique surajouté n'est pas altérée en immersion.

L'étude des effets de l'exercice immergé sur la fonction endothéliale, à laquelle notre étude pourrait servir de référence, devrait permettre de mieux connaître les risques et bénéfices de la rééducation cardiaque en immersion. Mais elle trouverait surtout des applications dans le domaine de la médecine de plongée, en participant à la compréhension de la physiopathologie des œdèmes pulmonaires d'immersion. Ces accidents surviennent le plus souvent chez des plongeurs sains. Leur origine est plurifactorielle, liée aux contraintes secondaires à l'hyperbarie, l'hyperoxie,

l'immersion et l'exposition au froid. La contrainte cardiovasculaire importantes de l'immersion joue de toute évidence un rôle dans leur survenue.

Plus largement, Ils pourront également servir de référence à des études sur les effets sur la fonction endothéliale de l'immersion en eau froide ou chaude, et de l'immersion prolongée, qui trouveront des applications dans le domaine de la survie en milieu aquatique.

## REFERENCES

Alam T. A. A review of methods currently used for assessment of in vivo endothelial function. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2005, 29: 269-276.

Boussuges A. Immersion in thermoneutral water: effects on arterial compliance. *Aviat Space Environ Med* 2006,77: 1183-1187.

Christie JL, Sheldahl LM, Tristani FE, Wann LS, Sagar KB, Levandoski SG, Ptacin MJ, Sobocinski KA, Morris RD Cardiovascular regulation during head-out water immersion exercise. *J Appl Physiol* 1990, 69: 657– 664.

Corretti MC et coll. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependant flow-mediated vasodilation of the brachial artery. *Journal of the American College of Cardiology* 2002, 39(2): 257-265.

Dyson K. S. Effect of acute sympathetic nervous system activation on flow-mediated dilation of brachial artery. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005,290: H1446-H1453.

Gabrielsen A, Johansen LB, Norsk P.. Central cardiovascular pressures during graded water immersion in humans. *J Appl Physiol* 1993, 75: 581-585.

Gabrielsen A, Sorensen VB, Pump B, Galatius S, Videbaek R, Bie P, Warberg J, Christensen NJ, Wroblewski H, Kastrup J, Norsk P. Cardiovascular and neuroendocrine responses to water immersion in compensated heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000, 279: H1931-1940.

Green DJ. Effect of exercise training on endothelium-derived nitric oxide function in humans. *J Physiol* 2004, 561(1): 1-25.

Huntsman LL. Noninvasive Doppler Determination of Cardiac Output in Man. Clinical Validation. *Circulation* 1983 , 67(3) : 593-602.

Higashi Y, Yoshizumi M. Exercise and endothelial

## Endothélium et immersion

- function: role of endothelium-derived nitric oxide and oxidative stress in healthy subjects and hypertensive patients. *Pharmacol Ther.* 2004, 102: 87-96.
- Jarvisalo MJ. Determinants of short-term variation in arterial flow-mediated dilation in healthy young men. *Clinical science* 2006, 110: 475-482.
- Lieberman EH, [Gerhard MD](#), [Uehata A](#), [Selwyn AP](#), [Ganz P](#), [Yeung AC](#), [Creager MA](#). Flow-induced vasodilation of the human brachial artery is impaired in patients 40 years of age with coronary heart disease. *Am J Cardiol* 1996, 78: 1210-1214.
- Lin YC. Circulatory functions during immersion and breath-hold dives in humans. *Undersea Biomed Res* 1984, 11:123–138.
- Mackenzie IS, Wilkinson IB, Cockcroft JR. Assessment of arterial stiffness in clinical practice. *Q J Med* 2002, 95:67-74.
- Miki K, Hajduczuk G, Hong SK, Krasney JA. Plasma volume changes during head-out water immersion in conscious dogs. *Am J Physiol* 1986, 251: R582–590.
- Miwa C, Sugiyama Y, Mano T, Iwase S, Matsukawa T. Sympatho-vagal responses in humans to thermoneutral head-out water immersion. *Aviat Space Environ Med* 1997, 68: 1109 –1114.
- Mourot et coll. Training-induced increase in nitric oxide metabolites in chronic heart failure and coronary artery disease : an extra benefit due to water-based exercises? *EJCPR* 2009.
- Nishiyama S.K. Limb-specific difference in flow-mediated dilation : the role of shear rate. *J Appl Physiol* 2007, 103: 843-851.
- Norsk P, Bonde-Petersen F, Christensen NJ. Catecholamines, circulation, and the kidney during water immersion in humans. *J Appl Physiol.* 1990, 69 : 479-484.
- Padilla J. Normalization of flow-mediated dilation to shear stress area under the curve eliminates the impact of variable hyperhemic stimulus. *Cardiovascular ultrasound* 2008, 6: 44.
- Sejda T. Limitations of non-invasive endothelial function assessment by brachial artery flow-mediated dilation. *Clin Physiol Funct Imaging* 2005, 25: 58-61.
- Silber H. Why is flow-mediated dilation dependant on arterial size? Assesment of the shear stimulus using phase-contrast magnetic resonance imaging. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004, 288: H822-H828.
- [Thijssen DH](#), [Bullens LM](#), [van Bommel MM](#), [Dawson EA](#), [Hopkins N](#), [Tinken TM](#), [Black MA](#), [Hopman MT](#), [Cable NT](#), [Green DJ](#). Does arterial shear explain the magnitude of flow-mediated dilation? : a comparison between young and older humans. *Am J Physiol Heart Circu Physiol* 2009, 296: H57-H64.
- [Thijssen DH](#), [Dawson EA](#), [Black MA](#), [Hopman MT](#), [Cable NT](#), [Green DJ](#). Heterogeneity in conduit artery function in humans : impact of arterial size. *Am Physiol Heart Circ Physiol* 2008, 295: H1927-H1934.
- Wiesner S. Neurohumoral and metabolic response to exercise in water. *Horm Metab Res* 2010, 42: 334-339.

## RESUME

**Fonction endotheliale induites par l'immersion. K Ayme, A Boussuges, M Coulange, O Gargne, O Gavarry, Y Gole. Bull. Medsubhyp, 2011, 21, 1 : 1 – 9.** En immersion, le débit cardiaque est augmenté. Un hyperdébit périphérique en résulte, qui active les mécanismes régulateurs de la pression artérielle. On constate de ce fait une diminution des résistances artérielles périphériques. Lorsqu'elle est activée par une augmentation des forces d'étirement exercées par le flux sanguin (shear stress), la cellule endothéliale libère des médiateurs comme le monoxyde d'azote et provoque une relaxation du muscle lisse vasculaire. Le shear stress pourrait être accru en ambiance immergée du fait de l'hyperperfusion périphérique et activer la fonction endothéliale, participant à la vasorelaxation périphérique. Nous avons cherché à établir si l'immersion tête hors de l'eau dans un bain à thermoneutralité s'accompagne d'une sollicitation de l'endothélium et si la réactivité de l'endothélium est modifiée en immersion, chez des sujets au repos en position assise. Nous avons pour ce faire réalisé l'étude échographique et doppler de l'artère brachiale de douze volontaires sains, en comparant pour chacun ambiance sèche et immergée. Nous avons mesuré les variations de calibre et de flux dans les conditions basales, après stimulation endothéliale par une hyperhémie induite par l'ischémie (FMD) et après stimulation du muscle lisse par la trinitrine. Il apparait que l'immersion induit un hyperdébit périphérique qui provoque une vasorelaxation de l'artère brachiale en partie liée à l'activation de la cellule endothéliale. La réactivité endothéliale au stimulus hyperhémique et la fonction musculaire lisse ne sont pas altérées par l'immersion. Ces résultats appuient l'intérêt de la rééducation en immersion des pathologies cardiaques associées à une dysfonction endothéliale (hypertension artérielle, pathologies athéromateuses), longtemps controversée. Elle pourra également servir de référence à des études de la fonction endothéliale à l'exercice, utiles en pathologie de la plongée pour étayer les connaissances de l'œdème pulmonaire.

Ayme et coll.



# MICROPARTICULES ET PHENOMENE BULLAIRE LORS DE LA DECOMPRESSION EN PLONGEE SOUS-MARINE: ELEMENT DU COUPLAGE ENTRE THROMBOSE ET INFLAMMATION DANS L'ACCIDENT DE DECOMPRESSION ?

J.M. PONTIER<sup>1</sup>, E. GEMPP. Ecole de Plongée de la Marine Nationale. BP 311.  
83800 Toulon Armées, (France).

## ABSTRACT

**Blood platelet microparticles and bubble formation during decompression after a scuba-dive. JM Pontier E Gempp. Bull. Medsubhyp 2011, 21, 1: 11 – 18.**

**Introduction:** Bubble-induced platelet aggregation (BIPA) offers index for evaluating decompression severity in human. In a rat model of decompression sickness (DCS), we highlighted a predominant involvement of platelet activation and thrombin generation but the results cannot prejudge between bubble-induced vessel wall injury and BIPA. Endothelial cells, blood platelet and leukocytes shed micro-particles (MP) upon activation and during cell apoptosis. The aim was to study MP release and bubble formation during decompression after a scuba-dive.

**Methods:** Healthy experienced divers were assigned to one experimental group (n=10) with an open-sea air dive to 30 msw for 30 min in field conditions and one control group (n=5) without hyperbaric exposure and decompression. Bubble grades were monitored with a pulsed doppler according to the Spencer scale and Kissman integrated severity score (KISS). Blood samples for platelet count (PC), endothelial MP (CD31), platelet MP (Annexin V and CD41), leucocyte MP (CD11b and CD66b) were taken 1-h before and after exposure in two groups.

**Results:** None of the divers developed any signs of DCS. The results showed a significant increase in platelet MP (with 2307 ng/ $\mu$ l +/- 471 vs 2119 ng/ $\mu$ l +/- 584 for Annexin V and 2245 ng/ $\mu$ l +/- 620 vs 2026 ng/ $\mu$ l +/- 821 for CD41) after diving with no change in control group. We found a significant correlation between the platelet MP values after decompression and the bubble KISS score ( $R^2=0.905$ , n=10, p<0.05). There was no significant change for CD31, CD11b and CD66b values.

**Discussion:** If BIPA is the pivotal and primary event during safe decompression without symptom of DCS, platelet MP reflect the platelet activation and could play a key role in the alteration of the coagulation with a pro-thrombotic event. In DCS, bubble-platelet aggregates could secondary interact with the endothelium causing microvasculature damages with endothelial MP formation and inflammatory respond with leukocytes MP generation.

**Keywords:** Microparticles, blood platelet, bubble, decompression

## INTRODUCTION

La relation entre accident de décompression (ADD) et formation de bulles s'impose à partir de la fin du 19<sup>ème</sup> siècle avec Paul Bert qui décrit en 1878 la présence de bulles dans le réseau vasculaire chez des animaux autopsiés après une décompression pathogène. A partir des travaux de Boycott et Haldane, en 1908, les premières tables de décompression ont pour objectif de maintenir le plongeur à l'abri d'une sursaturation critique, au-delà de laquelle les bulles apparaîtraient et entraîneraient l'accident de décompression. Il faut attendre Behnke, en 1942, pour voir émerger la notion de bulles asymptomatiques appelées « bulles silencieuses » lors de décompressions non pathogènes. Les techniques ultrasonores ont confirmé que des bulles peuvent s'observer dans la circulation veineuse et artérielle au décours d'une décompression en l'absence de toute manifestation

clinique. Depuis Harvey en 1944, il est admis que la formation des bulles n'est pas simplement la conséquence d'une sursaturation du gaz diluant lors de la décompression. L'existence de noyaux gazeux c'est-à-dire de phases gazeuses de très petites dimensions présentes à l'état basal dans les liquides, expliquerait la facilité de création des bulles.

Si le phénomène bullaire lors de la décompression reste le *primum movens* dans la pathogénie de l'ADD, les bulles circulantes vont se comporter dans le réseau vasculaire comme de véritables corps étrangers et autant d'événements obstructifs. Elles vont entraîner des réactions le plus souvent inappropriées et auto-entretenues qui constituent la *maladie de décompression*. En effet, ces bulles vont interférer avec les constituants des parois vasculaires et les éléments figurés du sang (globules rouges, globules blanc,

plaquettes sanguines). Au cours de la forme médullaire des accidents neurologiques, l'obstacle mécanique opposé à la microcirculation par les bulles circulantes peut être majoré par une obstruction biologique pouvant prendre la forme d'une véritable «thrombophlébite épидurale dysbarique». Les différentes composantes de la maladie de décompression concourent à la réalisation et au maintien d'une ischémie plurifactorielle où les phénomènes cytotoxiques se superposent peu à peu aux effets du déficit d'oxygène tissulaire. Si le niveau de bulles circulantes lors de la décompression est étroitement liée à une augmentation du risque de survenue d'une telle pathologie, l'activation et l'agrégation des plaquettes sanguines induites par le phénomène bullaire gardent une place non négligeable dans la pathogénie de ce type d'accident de plongée (Pontier et al. 2011).

Durant ces dernières années, un intérêt croissant a été accordé aux mécanismes d'activations cellulaires, en particulier endothéliales et plaquettaires au cours des sepsis ou des traumatismes graves. L'endothélium vasculaire, par sa position d'interface entre le sang et la paroi sous-jacente, joue un rôle fondamental dans la modulation de la réponse inflammatoire et thrombotique consécutive à des agressions variées. Les microparticules (MP), libérées dans le compartiment vasculaire par des cellules activées ou bien apoptotiques constituent des marqueurs circulants de l'atteinte cellulaire initiale. Ces MP sont accessibles à un dosage biologique alors même que les cellules dont elles sont issues restent inaccessibles à la détection, car séquestrées dans les tissus ou rapidement éliminées par phagocytose. Dans le compartiment vasculaire, deux mécanismes principaux conduisent au remodelage membranaire et à la génération de MP: l'activation cellulaire et l'apoptose. De façon très schématique, l'activation cellulaire est une réponse rapide aux différents stimuli caractérisée par une mobilisation de messagers secondaires (Ca<sup>++</sup>). L'apoptose, réponse plus lente (plusieurs heures) s'accompagne d'une néosynthèse, de la stimulation d'enzymes de dégradation spécifiques aboutissant à une fragmentation de l'ADN. Mais dans les deux cas, la membrane plasmique est remaniée et libère des microparticules caractéristiques des cellules émettrices. Les

aminophospholipides membranaires externalisés (à la surface des MP ou sur le feuillet externe des cellules activées) remplissent deux fonctions biologiques essentielles: elle permet d'une part l'assemblage des complexes enzymatiques de la coagulation et constitue d'autre part un signal de reconnaissance permettant l'épuration des cellules sénescence par le système réticuloendothélial. Les MP, de part leur petite taille diffusent rapidement dans les fluides biologiques et il existe une corrélation étroite entre le taux d'activation cellulaire induite et la génération de MP dans le surnageant (Morel et al. 2004).

Des études ont montré que le phénomène bullaire lors de la décompression est à l'origine d'une activation et d'une agrégation des plaquettes sanguines. Des travaux récents ont montré que la génération de MP circulantes d'origine plaquettaire et monocytaire chez l'homme lors de plongée sous-marines (Gris et al. 1997). Cette génération de MP s'accompagnait d'une élévation significative de facteur VII activé circulant. Selon les auteurs, ces MP pourraient constituer le socle phospholipidique d'assemblage des complexes enzymatiques de la coagulation fixant les facteurs vitamine K-dépendant en présence de calcium. Selon eux, les MP pourraient présenter un véritable rôle pathogène dans certaines conditions à l'origine de l'accident de décompression. Mais l'implication des MP dans la cascade d'évènements conduisant de l'activation plaquettaire à l'exacerbation de la réponse thrombotiques n'a pas fait l'objet d'étude dans l'accident de décompression.

Dans notre hypothèse, la génération de MP d'origine plaquettaire et endothéliale serait liée à l'importance du phénomène bullaire lors de la décompression. L'objectif de ce travail était d'étudier l'existence d'une telle relation chez des plongeurs sains lors d'une plongée sous-marine réalisée en condition réelle en l'absence de signes d'accident de décompression.

## MATERIEL ET METHODES

Dans cette étude, ont été retenus 14 plongeurs militaires volontaires sains, sans antécédents d'accident de décompression. La moyenne d'âge était de 35 ±6 ans avec un indice de masse

corporelle variant de 21 à 29 kg.m<sup>-2</sup>. Les sujets n'avaient pas pratiqué d'activités physiques 8 jours avant la plongée et n'avaient pas fait l'objet de prise thérapeutique susceptible d'affecter la fonction plaquettaire durant les 14 jours précédant l'étude. Ils n'avaient pas été exposés à des séjours en pression durant la semaine précédant l'étude.

Les sujets ont été affectés dans l'un des deux groupes: le groupe expérimental (n = 10) avec une plongée à l'air réalisée en mer dans des conditions réelles (température de l'eau: 11 °C ± 1) et le groupe témoin (n = 4) sans exposition hyperbare. Dans le groupe expérimental, la plongée s'est effectuée en mer à la profondeur maximale de 30 m (400 kPa) pour une durée de travail de 30 min sans effort physique sur le fond. Le retour vers la surface s'est effectué à la vitesse de remontée de 15 m.min<sup>-1</sup> et la réalisation d'un pallier de 9 min à la profondeur de 3 m (130 kPa) selon le protocole de décompression donnée par la table Marine Nationale (MN 90). Dans le groupe témoin, les sujets ont été maintenus à la pression atmosphérique. Ils ont été immergés durant 60 min dans une eau à 10°C avec une respiration en air ambiant.

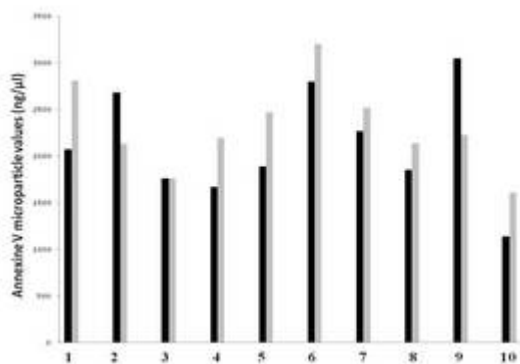


Fig.1. Valeurs des concentrations plasmatiques de microparticules Annexine V (ng/μl) d'origine plaquettaire mesurées avant (en noir) et après (en gris) plongée sous-marine chez les 10 sujets du groupe expérimental.

La détection des bulles circulantes a été réalisée par Doppler pulsé avec des enregistrements selon la cotation de Spencer et le score KISS (pour Kisman Integrated Severity Score). Toutes les mesures ont été effectuées 30 min, 60 min et 90 min après la sortie de l'eau. Pour chaque sujet dans les deux groupes, des prélèvements sanguins étaient effectués 1 heure avant et après plongée en

vue d'une détermination du nombre de globules rouges, de l'hématocrite, des plaquettes sanguine et des MP. Les MP plasmatique étudiées étaient l'Annexine V (AnV) et le CD41 reflet des plaquettes sanguines, le CD11b et CD66b reflet de la lignée leucocytaire et enfin le CD31 pour les cellules endothéliales. Dans les deux groupes, les prélèvements ont été réalisés 60 minutes avant et après la plongée sous-marine.

## RESULTATS

Aucun plongeur n'a présenté de signe d'accident de décompression durant l'étude.

Les résultats montrent une augmentation significative de la concentration plasmatique moyenne pour les microparticules Annexine V d'origine plaquettaire après la plongée (2307 ng/μl +/- 471 vs 2119 ng/μl +/- 584, moyenne +/-SD, n=10, p<0.05) [Fig.1] sans modification dans le groupe témoin.

De même, les résultats montrent une augmentation significative de la concentration plasmatique moyenne pour les microparticules CD41 d'origine plaquettaire après la plongée (2245 ng/μl +/- 620 vs 2026 ng/μl +/- 821, moyenne +/-SD, n=10, p<0.05) [Fig.2] sans modification dans le groupe témoin.

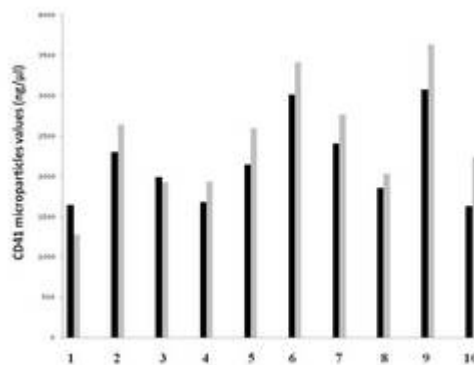


Fig.2. Valeurs des concentrations plasmatiques de microparticules CD41 (ng/μl) d'origine plaquettaire mesurées avant (en noir) et après (en gris) plongée sous-marine chez les 10 sujets du groupe expérimental.

De plus, il existe une relation entre les valeurs de concentration plasmatique en CD41 mesurées après plongée et le score KISS de bulles. Ainsi, les sujets qui présentent des niveaux de bulles circulantes élevés lors de la décompression ont des

valeurs de concentration plasmatique en CD41 élevées ( $r^2=0.905$ ,  $n=10$ ,  $p<0.05$ ) [Fig. 3].

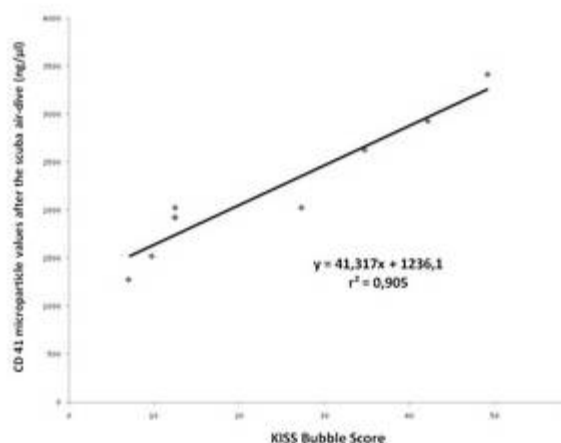


Fig.3. Relation entre les valeurs de concentration plasmatique de microparticules CD41 (ng/ $\mu$ l) d'origine plaquettaire mesurées après plongée sous-marine et le niveaux de bulles circulantes (Score KISS).

Dans les 2 groupes, les résultats ne montrent pas de modification significative entre les valeurs de concentration moyenne en microparticules CD31 (3480 ng/ $\mu$ l +/- 1228 vs 3920 ng/ $\mu$ l +/- 1971, moyenne +/-SD,  $n=10$ ,  $p=0.314$ ) [Fig 4], CD11b (1401 ng/ $\mu$ l +/- 282 vs 1532 ng/ $\mu$ l +/- 290, moyenne +/-SD,  $n=9$ , ns) et CD66b (1376 ng/ $\mu$ l +/- 135 vs 1536 ng/ $\mu$ l +/- 227, moyenne +/-SD,  $n=9$ , ns)[Fig 5].

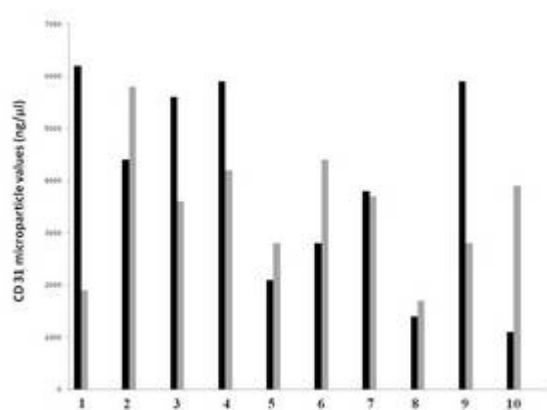


Fig.4. Valeurs des concentrations plasmatiques de microparticules CD31 (ng/ $\mu$ l) d'origine endothéliale mesurées avant (en noir) et après (en gris) plongée sous-marine chez les 10 sujets du groupe expérimental.

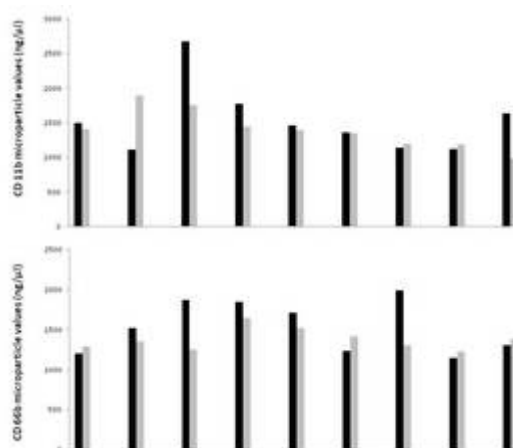


Fig.5. Valeurs des concentrations plasmatiques de microparticules CD11b et CD66b (ng/ $\mu$ l) d'origine leucocytaire mesurées avant (en noir) et après (en gris) plongée sous-marine chez les 10 sujets du groupe expérimental.

## DISCUSSION

L'objectif de ce travail était d'étudier l'existence d'une relation entre la génération de MP et le phénomène bullaire lors de la décompression non pathogène chez le plongeur sain. Les résultats montrent des concentrations élevées d'Annexine V et de CD41 après la plongée sous-marine. Les déterminants phénotypiques portés par les MP libérées dans le compartiment vasculaire sont directement dépendant du stimulus cellulaire initial (Jimenez et al. 2003). Ainsi, les MP d'origine endothéliale, leucocytaire et plaquettaire sont des fragments membranaires de petite taille libérés dans le milieu extracellulaire et reflet du processus d'activation cellulaire (Morel et al. 2006). Longtemps considérées comme des débris cellulaires dépourvus de fonctions biologiques propres, les MP se comportent en réalité comme de véritables effecteurs cellulaires capables d'augmenter le statut pro-thrombotique d'une cellule cible et impliqués dans le couplage entre inflammation et thrombose (Abid Husein et al. 2003).

L'activation puis l'agrégation des plaquettes sanguines liées au phénomène bullaire constitue un index de sévérité de la décompression chez l'homme lors de plongée sous-marines non pathogènes et dans des modèles d'ADD chez l'animal (Pontier et al. 2009). Au sein de la

micro-circulation pulmonaire, l'agrégation plaquettaire à la périphérie des bulles circulantes est à l'origine d'une obstruction mécanique des micro-vaisseaux. L'accident bullaire initial se caractériserait ainsi par un état pro-thrombotique localement aggravant les troubles hémorhéologiques loco-régionaux (Pontier et al. 2008). Il semble que le mécanisme d'activation soit lié initialement aux interactions entre les bulles circulantes et les plaquettes sanguines qui s'accompagnent de la sécrétion d'agonistes plaquettaires tels que l'adénosine di-phosphate ou le thromboxane A<sub>2</sub> et la génération de thrombine (Pontier et al. 2009).

Les MP plaquettaires constituent le principal réservoir circulant d'activité facteur tissulaire (FT), acteur clés de l'hémostase physiologique. Le FT est le récepteur cellulaire pour les facteurs VII et VIIa circulants. Ce complexe (FT-VIIa) active les facteurs IX et X de la coagulation permettant la transformation de prothrombine en thrombine et la formation d'un agrégat plaquettaire. La thrombine générée, l'un des plus puissants agonistes plaquettaire avec l'ADP et le collagène, active les facteurs VIII et IX impliqués dans la propagation et l'extension du thrombus. Ces dernières années, plusieurs travaux ont considérablement modifié cette approche d'initiation de la coagulation en soulignant le rôle primordial d'un réservoir circulant de FT biologiquement actif (Muller et al. 2003).

Ainsi les résultats concernant les valeurs de MP plaquettaires (Annexine V et CD41) sont le reflet du degré d'activation plaquettaire induit par le phénomène bullaire à l'origine des agrégats de plaquettes à la périphérie des bulles circulantes. Les MP plaquettaires pourraient ainsi constituer un index de sévérité de la décompression à l'origine et caractériser le degré de l'état pro-thrombotique induit par le phénomène bullaire. Dans l'accident de décompression, les MP plaquettaires jouent probablement un rôle déterminant dans la diffusion à distance de ce potentiel thrombotique. Chez l'homme, les taux circulants élevés de MP plaquettaires sont retrouvés dans de nombreuses pathologies thrombotiques telles que l'infarctus du myocarde et le diabète (Morel et al. 2005). En raison de leur extrême plasticité membranaire, les plaquettes sanguines constituent la source principale des MP pro-coagulantes retrouvées chez l'homme et la thrombogénicité des MP circulantes

semblent corrélée à leur richesse en facteur tissulaire (Biro et al. 2003). Ainsi, dans l'ADD, cette génération de MP pro-coagulantes éventuellement porteuses de FT d'origine plaquettaire, endothéliale et/ou leucocytaire pourrait être observée et contribuer à l'amplification de la génération de thrombine en particulier mais également de nombreux agonistes plaquettaires parmi lesquels les cytokines ou les radicaux libres de l'oxygène. Dans ce contexte, les MP plaquettaires pourraient avoir un rôle délétère en activant la réponse inflammatoire, l'apoptose cellulaire et favoriser la libération de médiateurs à l'origine d'une activation cellulaire à distance. L'œdème vasogénique et cytotoxique, l'anoxie, la majoration du stress oxydatif lors du phénomène d'ischémie-reperfusion et les mécanismes inflammatoires contribueraient alors, dans un second temps, à pérenniser l'apoptose cellulaire. L'ADD se caractériserait alors par l'amplification de la génération de MP plaquettaires procoagulantes à l'origine d'une diffusion de l'état pro-thrombotique à distance.

Le second résultat de cette étude concerne l'absence de modification des valeurs de concentration plasmatique moyenne de MP d'origine endothéliale (CD31) et leucocytaire (CD11b et CD66b) mesurées avant et après plongée. Au cours des sepsis et des traumatismes graves, les MP participent à la modulation du statut inflammatoire. L'acide arachidonique transporté par les MP induit une augmentation de l'expression de molécules d'adhésion (ICAM-1) endothéliales (Barry et al. 1997). De plus, la libération de nombreuses MP d'origine endothéliale a pu être mise en évidence dans des modèles animaux de Syndrome de Réponse Inflammatoire Systémique (SIRS) ou le neuropaludisme, (Ogura et al. 2004). Ces MP endothéliales et monocytaires participent à la formation de micro-agrégats avec les polynucléaires neutrophiles circulants et les plaquettes. Ces MP induisent également la néosynthèse de récepteurs monocytaires favorisant les interactions leuco-endothéliales. Enfin, les MP d'origine leucocytaire induisent la libération de plusieurs cytokines endothéliales (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8) ou monocytaires (IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-8) (Nomur et al. 1999). Au cours des traumatismes graves, l'élévation des taux circulants de MP leucocytaires porteuses de cytoadhésines témoigne d'une stimulation leucocytaire intense associée à une

élévation du potentiel pro-adhésif. Ces MP porteuses de cytoadhésines sont, en effet, capables de former des micro-agrégats MP-cellules contribuant aux interactions entre les leucocytes, les plaquettes et l'endothélium. De plus, de nombreux travaux expérimentaux ont démontré la capacité des MP leucocytaires et endothéliales à moduler le tonus vasculaire. Ainsi, ces MP sont en mesure d'induire une dysfonction endothéliale micro-circulatoire caractérisée par une altération de la relaxation vasculaire par une diminution de la NO-synthase endothéliale (Martin et al. 2004). Les MP endothéliales générées sous l'action de nombreux agonistes entraînent une altération de la relaxation vasculaire à l'acétylcholine, une majoration du stress oxydatif et une diminution de la production de NO, puissant vasodilatateur, antiagrégant plaquettaire et facteur majeur de survie des cellules endothéliales (Brodsky et al. 2004).

Le rôle joué par les interactions entre les plaquettes, les cellules endothéliales et les bulles circulantes pourrait être déterminant dans l'amplification des réponses inflammatoires et thrombotiques. En effet, l'endothélium non activé constitue une surface non thrombogène hémocompatible pauvre en cytoadhésines et ne permettant pas le recrutement des monocytes et des plaquettes circulants. Lors de la décompression, des arguments expérimentaux sont en faveur d'un certain degré d'activation plaquettaire associé à la génération de MP d'origine plaquettaire. Ces dernières libérées par les plaquettes sanguines contribueraient à l'activation endothéliale en majorant le stress oxydatif et ses conséquences, en augmentant la synthèse de cytoadhésines et la libération de cytokines pro-inflammatoires. Ces mécanismes pourraient alors conduire à une stimulation endothéliale supplémentaire associée à la libération de MP endothéliales. Dans une boucle autocrine, ces MP endothéliales seraient en mesure de modifier le phénotype endothélial en y majorant le stress oxydatif.

## CONCLUSION

Le phénomène bullaire lors de décompression non pathogène s'accompagne d'une activation plaquettaire et de la génération de MP pro-coagulante probablement porteuse de facteur

tissulaire. Ces MP diffusent dans le compartiment vasculaire un potentiel pathogène susceptible d'exacerber à distance l'agrégation plaquettaire liée au phénomène bullaire et de jouer un rôle moteur dans le déclenchement d'un état pro-thrombotique avéré. Des travaux dans le choc sceptique ont montré une relation étroite entre des taux de MP plaquettaires élevés et l'initiation d'un état pro-coagulant. Dans l'ADD, cet état pourrait être à l'origine la formation de thrombi plaquettaire au voisinage des bulles et l'initiation d'un état pro-thrombotique à distance. Dans le compartiment vasculaire, le taux et la nature des MP circulantes pourraient ouvrir de nouveaux champs d'application dans la compréhension des mécanismes intervenant dans la physiopathologie de l'ADD.

## REMERCIEMENTS

La réalisation de cette étude préliminaire a bénéficié d'un soutien scientifique, technique et financier. Sur le plan scientifique, nous avons bénéficié de l'aide de Lionel Bourdon (MD, PhD) de l'Institut de Recherche Biomédicale des Armées. Sur le plan technique, nous avons réalisé les plongées en mer au sein de l'École de plongée. Les prélèvements sanguins ont été réalisés par l'équipe du Dr Emile chef du laboratoire de biologie et de biochimie de l'HIA St Anne et de son assistante Madame Corrine Denozio. Les dosages de MP ont été réalisés par l'équipe de Françoise Dignat-George chef du laboratoire d'hématologie de l'hôpital de la Conception à Marseille avec l'aide de Romaric Lacroix (MD, PhD). Cette étude a pu être réalisée grâce au soutien financier apporté par la bourse de recherche de la Société de Médecine Subaquatique et Hyperbare et le PEA/DGA (COSSA 2008).

## RÉFÉRENCES

- Abid-Hussein MN, Meesters EW, Osmanovic N, Romijn FP, Nieuwland R. A antigenic characterization of endothelial cell-derived microparticles and their detection ex vivo. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 2434-43.
- Barry OP, Pratico D, Lawson JA, Fitzgerald GA. Transcellular activation of platelets and endothelial cells by bioactive lipids in platelet microparticles. *J Clin Invest* 1997; 99: 2118-27.
- Biro E, Vogel GM, Meuleman DG, Smith MJ, Hack CE. Human-cell derived microparticles promotes thrombus formation in vivo in a tissue factor-dependent manner. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 2561-8.



















