HAL
open science

LES EFFETS DE L'HYPOXIE CHEZ LE SUJET SAIN ET PATHOLOGIQUE

Guillaume Costalat

To cite this version:

Guillaume Costalat. LES EFFETS DE L'HYPOXIE CHEZ LE SUJET SAIN ET PATHOLOGIQUE. Physiologie [q-bio.TO]. Université de Rouen, 2015. Français. NNT : . tel-01311341

HAL Id: tel-01311341

https://theses.hal.science/tel-01311341

Submitted on 4 May 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ DE ROUEN

FACULTÉ DES SCIENCES DU SPORT ET DE L'ÉDUCATION PHYSIQUE

THÈSE pour l'obtention du grade de :

DOCTEUR D'UNIVERSITÉ

Champ Disciplinaire : STAPS, 74e section du CNU

École doctorale n°556 : « Homme, Sociétés, Risques, Territoire »

Présentée et soutenue publiquement le 14 décembre 2015, par

Guillaume COSTALAT

LES EFFETS DE L'HYPOXIE CHEZ LE SUJET SAIN ET PATHOLOGIQUE

Sous la codirection de : Dr Frédéric Lemaître et Pr Olivier Sirost

Devant un jury composé de :

M. Frédéric Lemaître, Maître de conférences HDR, Université de Rouen, France (*directeur*)

M. Olivier Sirost, Professeur des Universités, Université de Rouen, France (*co-directeur*)

M. Aurélien Pichon, Maître de conférences HDR, Université de Poitiers, France *(rapporteur)*

M. Stéphane Perrey, Professeur des Universités, Université Montpellier I, France *(rapporteur et président du jury)*

Ms. Gillian Renshaw, Associate Professor, Université de Griffith, Australie

Laboratoire CETAPS EA 3832

UNIVERSITÉ DE ROUEN

FACULTÉ DES SCIENCES DU SPORT ET DE L'ÉDUCATION PHYSIQUE

THÈSE pour l'obtention du grade de :

DOCTEUR D'UNIVERSITÉ

Champ Disciplinaire : STAPS, 74e section du CNU

École doctorale n°556 : « Homme, Sociétés, Risques, Territoire »

Présentée et soutenue publiquement le 14 décembre 2015, par

Guillaume COSTALAT

LES EFFETS DE L'HYPOXIE CHEZ LE SUJET SAIN ET PATHOLOGIQUE

Sous la codirection de : Dr Frédéric Lemaître et Pr Olivier Sirost

Devant un jury composé de :

M. Frédéric Lemaître, Maître de conférences HDR, Université de Rouen, France (*directeur*)

M. Olivier Sirost, Professeur des Universités, Université de Rouen, France (*co-directeur*)

M. Aurélien Pichon, Maître de conférences HDR, Université de Poitiers, France *(rapporteur*

M. Stéphane Perrey, Professeur des Universités, Université Montpellier I, France *(rapporteur et président du jury)*

Ms Gillian Renshaw, Associate Professor, Université de Griffith, Australie

Laboratoire CETAPS EA 3832

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier en tout premier lieu mon directeur de thèse M. Frédéric Lemaître sans qui ce travail n'aurait pu aboutir. D'une rare disponibilité, il a su me guider dans mes recherches et a développé mon sens de l'autonomie tout au long de cette aventure. Merci également à M. Olivier Sirost, co-directeur, pour ses retours pertinents et ses conseils avisés.

Je souhaite aussi remercier Gillian Renshaw d'avoir accepté ce travail collaboratif ainsi que son accueil très chaleureux au sein de la *School of Allied Health Sciences*, une expérience très enrichissante au pays des kangourous et bien évidemment inoubliable!

Je remercie les rapporteurs de cette thèse, M. Aurélien Pichon et M. Stéphane Perrey, pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail et leur lecture attentive de ce manuscrit.

Par ailleurs, je souhaite souligner les conditions de travail très confortables qui m'ont été offertes par le laboratoire CETAPS avec, au passage, une dédicace aux doctorants, et plus particulièrement aux inconditionnels du bureau « d'en bas » : Camille, Florian, et Romain!

Un grand merci à Ingrid C. et Jerémy C. pour leur investissement et leur participation aux expérimentations. Merci également à l'ensemble des personnes qui ont accepté de participer aux protocoles expérimentaux.

Je tiens aussi à remercier M. Fabrice Bauer et M. Frank Bour pour leur aide, les détails techniques et les astuces précieuses qu'ils ont pu me fournir pour une utilisation optimale du PhysioFlow.

Enfin, merci à tous mes proches pour leur soutien.

SOMMAIRE DE LA THÈSE

REMERCIEMENTS **2**

SOMMAIRE DE LA THÈSE **3**

LISTE DES PUBLICATIONS **9**

ABBRÉVIATIONS **11**

PARTIE I : REVUE DE LITTÉRATURE **14**

I.1 Introduction : Les différentes formes d'hypoxie 15

I.2 Le réflexe de plongée 16

I.2.1 Généralités 16

I.2.2 L'économie d'O_2 17

I.2.2.1 Ajustements cardio-vasculaires 17

I.2.2.2 Contractions de la rate 18

I.3 Facteurs influençant le réflexe de plongée 20

I.3.1 Immersion et température 20

I.3.2 L'exercice 25

I.3.3 L'entraînement 27

I.3.4 Autres facteurs 31

I.4 Stratégies de pré-acclimatation à l'hypoxie d'altitude 32

I.4.1 Performances sportives et pathologies d'altitude 32

I.4.2 La réponse ventilatoire à l'hypoxie : un facteur pronostic d'acclimatation à l'altitude 33

I.4.3 Réponse ventilatoire à l'hypoxie et protocoles hypoxiques 37

I.4.4 Réponses ventilatoires à l'hypoxie et à l'hypercapnie chez les apnéistes 40

I.5 Hypoxie et syncope 47

I.5.1 Généralités sur la syncope 47

I.5.2 Syncope, hypoxie et environnement extrême : l'exemple de l'apnée 47

I.5.3 Physiopathologie de la syncope en apnée : un rôle joué par l'adénosine ? 48

I.5.3.1 L'adénosine 48

I.5.3.2 Régulation 49

I.6 Hypoxie et troubles métaboliques 50

I.6.1 L'émergence d'une nouvelle « théorie hypoxique » 50

I.6.1.1 Rôle du tissu adipeux blanc 50

I.6.1.2 Hypoxie du tissu adipeux 51

I.6.2 La « théorie hypoxique » appliquée aux cellules adipocytaires 52

I.6.2.1 Adipokines 52
I.6.2.2 L'Insulino-résistance 53
I.7 Le « paradoxe hypoxique » : cause et stratégie de traitement des facteurs de risques cardio-métaboliques ? 54
I.7.1 Protocoles hypoxiques chez les sujets atteints de troubles métaboliques 54
I.7.1.1 Séjours en altitude 54
I.7.1.2 Effets de l'hypoxie per se 57
I.7.1.3 Hypoxie et exercice 59
I.7.2 Mécanismes d'actions de l'hypoxie sur les paramètres métaboliques : premières hypothèses 61
I.7.2.1 Régulation de la glycémie 61
I.7.2.2 Dépense énergétique et métabolisme basal 62
I.7.2.3 Effets anorexigènes 64
I.7.3 L'hypoxie intermittente 65
I.7.3.1 Hypoxie intermittente « modérée » vs. hypoxie intermittente « sévère » 65
I.7.3.2 Une méthode pour réduire les facteurs de risques cardio-métaboliques ? 67

BUT GÉNÉRAL DE LA THÈSE 69

PARTIE II : MATÉRIELS ET MÉTHODES 71
II.1 Population étudiée 72
II.2 Protocoles expérimentaux 74
II.2.1 Étude 1 : projets PhysioFlow (1a) / BradyModeling (1b) 74
II.2.2 Étude 2 : projet FreeHypox 76
II.2.3 Étude 3 : projet CarbOxy 78
II.2.4 Étude 4 : projet Adéno 78
II.2.5 Étude 5 : projet IHE 80
II.3 Variables physiologiques mesurées 84
II.3.1 Paramètres hémodynamiques 84
II.3.1.1 Impédancemétrie thoracique (études 1, 2, 3) 84
II.3.1.2 Précautions liées à l'immersion (études 1a, 1b) 86
II.3.1.3 Extraction des intervalles R-R (étude 1b) 87
II.3.2 Oxygénation de la microcirculation musculaire (étude 2) 88
II.3.3 Lactatémie (études 3, 5) 89
II.3.4 Saturation périphérique en oxygène (études 1, 2, 3, 4,5) 90
II.3.5 Réponses cardio-ventilatoires à l'hypoxie et à l'hypercapnie (étude 3) 91
II.3.5.1 Test en altitude simulée de « Richalet » (étude 3) 91
II.3.5.2 Test de réinspiration au gaz carbonique de « Read » (étude 3) 93
II.3.6 Dosage de l'Adénosine (étude 4) 94
II.3.7 Profil lipidique et glycémique (étude 5) 95
II.3.8 Pression artérielle (étude 5) 95

II.4 Traitement des données 96
II.4.1 Projet PhysioFLow 96
II.4.1.1 Cinétiques hémodynamiques et saturation périphérique en oxygène 96
II.4.2 Projet BradyModeling 97
II.4.2.1 Modélisation de la bradycardie au repos : approche non-linéaire 97
II.4.2.2 Variabilité de la fréquence cardiaque 99
II.4.3 Projet FreeHypox 101
II.4.3.1 Cinétiques hémodynamiques, saturation périphérique en oxygène et oxygénation musculaire 101
II.4.3.2 Modélisation de la bradycardie à l'effort : approche linéaire 102
II.4.4 Projet CarbOxy 103
II.4.4.1 Sensibilités cardio-ventilatoires au gaz carbonique 103
II.4.4.2 Sensibilités cardio-ventilatoires à l'hypoxie 105
II.5 Analyse statistique 106
II.5.1 Taille des échantillons 106
II.5.2 Qualité d'ajustement des modèles (étude 1a) 108
II.5.3 Comparaison de modèles de régression (étude 1b) 109
II.5.4 Comparaison des échantillons (études 1, 2, 3, 4, 5) 110

PARTIE III : RÉSULTATS 112
III.1 Projet PhysioFlow (étude 1a) 113
III.1.1 Temps des apnées statiques 113
III.1.2 Paramètres hémodynamiques avant et au départ de l'apnée 113
III.1.3 Cinétiques hémodynamiques et saturation périphérique en oxygène 113
III.2 Projet BradyModeling (étude 1b) 115
III.2.1 Cinétiques de la bradycardie et de la saturation périphérique en oxygène 115
III.2.2 Qualité d'ajustement des modèles et comparaison au modèle mono-phasique de Caspers 117
III.2.3 Variabilité de la fréquence cardiaque 119
III.3 Projet FreeHypox (étude 2) 120
III.3.1 Temps des apnées dynamiques 120
III.3.2 Températures de l'eau et de l'air ambiant 120
III.3.3 Cinétiques hémodynamiques et saturation périphérique en oxygène 120
III.3.4 Modèles linéaires de la bradycardie à l'effort 122
III.3.5 Cinétiques de l'oxygénation du vaste latéral 123
III.3.6 Lactatémie 125
III.4 Projet CarbOxy (étude 3) 125
III.4.1 Test de « Richalet » 125
III.4.1.1 Réponses ventilatoires à l'hypoxie 125
III.4.1.2 Réponses hémodynamiques à l'hypoxie 127
III.4.1.3 Intensité de l'exercice 128
III.4.2 Test de « Read » 128

III.4.2.1 Réponses ventilatoires à l'hypercapnie 128
III.4.2.2 Réponses hémodynamiques à l'hypercapnie 130
III.5 Projet Adeno (étude 4) 130
III.5.1 Temps des apnées statiques sous-maximales 130
III.5.2 Concentrations plasmatiques en adénosine 130
III.5.3 Fréquence cardiaque et saturation périphérique en oxygène 131
III.5.4 Corrélations 131
III.6 Projet IHE (étude 5) 132
III.6.1 Dose hypoxique et cycles d'hypoxie-réoxygénation 132
III.6.2 Profil glycémique et lipidique 132
III.6.2.1 Une seule session d'HI 132
III.6.2.2 Deux semaines d'HI 133
III.6.3 Pression artérielle et variabilité de la fréquence cardiaque 134

PARTIE IV : DISCUSSION 136
IV.1 Etudes 1a, 1b (projet PhysioFlow, BradyModeling) 137
IV.1.1 Discussion 137
IV.1.2 Limites 148
IV.1.3 Conclusion et perspectives 148
IV.2 Etude 2 (Projet FreeHypox) 149
IV.2.1 Discussion 149
IV.2.2 Limites 156
IV.2.3 Conclusion et perspectives 157
IV.3 Étude 3 (projet CarbOxy) 158
IV.3.1 Discussion 158
IV.3.2 Limites 162
IV.3.3 Conclusion et perspectives 163
IV.4 Etude 4 (projet Adéno) 164
IV.4.1 Discussion 164
IV.4.2 Limites 168
IV.4.3 Conclusion et perspectives 168
IV.5 Étude 5 (projet IHE) 169
IV.5.1 Discussion 169
IV.5.2 Limites 174
IV.5.3 Conclusion et perspectives 175

PARTIE V : CONCLUSION GÉNÉRALE 176

BIBLIOGRAPHIE 178

PARTIE VI : ANNEXES 215

VI.1 Annexe 1 : Algorithme du PhysioFlow® 216
VI.2 Annexe 2 : Limites inférieures et supérieures des paramètres initiaux du modèle 217
VI.3 Annexe 3 : Calcul des intervalles de confiance des paramètres dérivés du modèle 218
VI.4 Annexe 4 : ANOVA à plan d'expérience mixte avec SPSS 221
VI.5 Annexe 5 : Contrat doctoral 224

PUBLICATIONS ASSOCIÉES À LA THÈSE 228

FINANCEMENTS 260

« Nous n'avons pas conscience absolue d'une théorie ;

elle n'est que provisoire ».

Claude Bernard

Cahier de notes (1850-1860)

LISTE DES PUBLICATIONS

Ce travail de thèse a été publié sous forme de quatre articles et d'un article actuellement en révision dans des revues internationales à comité de lecture :

- **Article n°1 :** Costalat G, Coquart J, Castres I, Tourny C, Lemaître F, **Hemodynamic adjustments during breath-holding in trained divers**, *European Journal of Applied Physiology*, 113(10): 2523-2529, 2013.

- **Article n°2 :** Costalat G, Pichon A, Joulia F, Lemaître F, **Modeling the diving bradycardia: Toward an "oxygen-conserving breaking point"?**, *European Journal of Applied Physiology*, 115(7): 1475-1484, 2015.

- **Article n°3 :** Costalat G, Pichon A, Coquart J, Bauer F, Lemaître F, **Cardio-ventilatory responses to poikilocapnic hypoxia and hypercapnia in trained breath-hold divers**, *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 192 (0):48-54, 2014.

- **Article n°4 :** Joulia F, Coulange M, Lemaitre F, Costalat G, Franceschi F, Gariboldi V, Nee Laetitia, Fromonot J, Bruzzese L, Gravier G, Kipson N, Jammes Y, Boussuges A, Brignole M, Deharo JC, Guieu R, **Plasma adenosine release is associated with bradycardia and transient loss of consciousness during experimental breath-hold diving**, *International Journal of Cardiology*, 168(5): 138-141, 2013.

- **Article n°5 :** Costalat G, Coquart J, Castres I, Joulia F, Sirost O, Lemaître F, **The oxygen-conserving potential of the diving reflex: a kinetic-based analysis**, *European Journal of Applied Physiology* [article soumis]

En parallèle de ce travail de thèse, d'autres travaux de recherche ont été menés et ont abouti aux publications suivantes :

- Lemaître F, Lafay V, Taylor M, Costalat G, Gardette B. **Electrocardiographic aspects of deep dives in elite breath-hold divers**. *Undersea & Hyperbaric Medicine,* 40(2): 145-154, *2013.*

- Lemaître F, Coquart JB, Chavallard F., Castres I, Mucci P, Costalat G, Chollet D. **Effect of additional respiratory muscle endurance training in young well-trained swimmers**. *Journal of Sports Science & Medicine,*12(4): 630-638, *2013.*

- Lemaître F, Kohshi K, Tamaki H, Nakayasu K, Harada M, Okayama M, Satou Y, Hoshiko M, Ishitake T, Costalat G, Gardette B. **Doppler detection in Ama divers of Japan**. *Wilderness & Environmental Medicine,* 25(3): 258-262, *2014.*

- Joulia F, Coulange M, Lemaitre F, Desplantes A, Costalat G, Bruzzese L, Franceschi F, Barberon B, Kipson N, Jammes Y, Guieu R. **Ischaemia modified albumin during experimental apnea**. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology,* 93(6): 421-426, *2015.*

ABBRÉVIATIONS

A

A (paramètre du modèle) : Amplitude théorique de la décroissance exponentielle

$A_{\%Fc}$ (paramètre du modèle) : Amplitude de la décroissance exponentielle réellement observée

AIC : Critère d'information d'Akaïke

ANSM : Activité nerveuse sympathique musculaire

AMP : Adénosine monophosphate

ATP : Adénosine triphosphate

B

B (paramètre du modèle) : Sensibilité de l'augmentation de la Fc après le « point d'économie d'O_2 »

χ^2_{red} : khi-carré réduit

C (paramètre du modèle) : Sensibilité de la seconde bradycardie après le « point d'économie d'O_2 »

C

CO_2 : Dioxyde de carbone

CPA : Concentration plasmatique en adénosine

D

DC : Débit cardiaque

DFA : Analyse des fluctuations redressées

DFAα1 : Analyse des fluctuations redressées sur le court terme

F

Fc : Fréquence cardiaque

Fc_S (paramètre du modèle) : Pente (mathématique) de la bradycardie

Fc_{S1} (paramètre du modèle) : Pente (mathématique) de la bradycardie avant O_{2bp}

Fc_{S2} (paramètres du modèle) : Pente (mathématique) de la bradycardie après O_{2bp}

Fc_{max} (paramètre du modèle) : Pic de la Fc exprimé en pourcentage

F_r : Fréquence respiratoire

G

GLUT-4 : Transporteur du glucose de type 4 (*glucose transporter type 4*)

H

[HbO_2] : Oxyhémoglobine

HCR : Réponse cardiaque à l'hypoxie (*Hypoxic cardiac response*)

HCR_r : Réponse cardiaque à l'hypoxie au repos

HCR_e : Réponse cardiaque à l'hypoxie à l'effort

HCVR : Réponse ventilatoire à l'hypercapnie (*hypercapnic ventilatory response*)

$HDCR_r$: Réponse du débit cardiaque à l'hypoxie au repos

$HDCR_e$: Réponse du débit cardiaque à l'hypoxie à l'effort

HDLc : Lipoprotéines de haute densité transportant le cholestérol

[HHb] : Désoxyhémoglobine

HI : Hypoxie intermittente

HIF : Facteurs induits par l'hypoxie

HX : Hypoxique

$HVESR_r$: Réponse du volume d'éjection systolique à l'hypoxie au repos

$HVESR_e$: Réponse du volume d'éjection systolique à l'hypoxie à l'effort

HVR : Réponse ventilatoire à l'hypoxie (*hypoxic ventilatory response*)

HVR_e : Réponse ventilatoire à l'hypoxie à l'effort

HVR_r : Réponse ventilatoire à l'hypoxie au repos

L

LDLc : Lipoprotéines de basse densité transportant le cholestérol

N

NIRS : Spectroscopie dans le proche infrarouge (*Near-InfraRed Spectroscopy*)

NX : Normoxique

O

O_2 : Oxygène

O_{2bp} (paramètre du modèle) : « Point d'économie d'O_2 »

P

$PaCO_2$: Pression partielle artérielle en CO_2

PaO_2 : Pression partielle artérielle en O_2

PO_2 : Pression partielle d'O_2

PCB : Perte de connaissance brève

$PetCO_2$: Pression partielle de fin d'expiration en CO_2

$PetO_2$: Pression partielle de fin d'expiration en O_2

R

$\boldsymbol{R^2}$: Coefficient de détermination

$\boldsymbol{\overline{R}^2}$: Coefficient de détermination ajusté

RMSE : Racine carrée de la somme des carrés des erreurs (*root mean square errors*)

RMSSD : Racine carrée des différences au carré des intervalles R-R successifs

S

$\mathbf{SaO_2}$: Saturation artérielle en O_2

$\mathbf{SpO_2}$: Saturation périphérique en O_2

$\mathbf{SpO_{2min}}$: Pourcentage de la SpO_2 le plus bas

$\mathbf{StO_2}$: Saturation tissulaire en O_2

T

$\boldsymbol{\tau}$ (paramètre du modèle) : Constante de temps de la décroissance exponentielle

$\mathbf{T_{min}}$ (paramètre du modèle) : Temps auquel la Fc atteint sa valeur la plus basse au cours de la décroissance exponentielle

[tHb] : Hémoglobine totale

V

$\mathbf{\dot{V}_E}$: Débit ventilatoire

VES : Volume d'éjection systolique

$\mathbf{\dot{V}_EB}$: Débit ventilatoire au repos

$\mathbf{\dot{V}_ES}$: Sensibilité ventilatoire au CO_2

VFC : Variabilité de la fréquence cardiaque

$\mathbf{\dot{V}O_{2max}}$: Consommation maximale d'O_2

VRT : Seuil de recrutement ventilatoire (*ventilatory recruitment threshold*)

$\mathbf{V_T}$: Volume courant

VTD : Volume télédiastolique

PARTIE I :

REVUE DE LITTÉRATURE

I.1 Introduction : Les différentes formes d'hypoxie

Le terme hypoxie désigne une situation où la biodisponibilité en oxygène (O_2) d'un milieu est réduite par rapport à une situation où la concentration en O_2 de ce milieu est considérée comme « normale » (normoxie) (Prabhakar et Semenza 2012). L'hypoxie est donc par définition un terme relatif, dans le sens où celui-ci dépend du seuil attribué au milieu normoxique, lui-même variable d'un tissu (ou organe) à l'autre (Carreau et coll. 2011). En fonction de son étiologie, l'hypoxie a été classée selon 4 grandes catégories (Gradwell 2006) :

L'hypoxie anémique se caractérise par une réduction de la capacité de transport d'O_2 par le sang. Elle peut être causée par une diminution du nombre d'érythrocytes (globules rouges) circulants, une quantité insuffisante d'hémoglobine dans les érythrocytes ou bien par une intoxication au monoxyde de carbone. Dans ce type d'hypoxie, la pression partielle artérielle en O_2 (PaO_2) est toujours normale et seule la capacité de transport de l'O_2 est altérée.

L'hypoxie histotoxique dans laquelle l'apport en O_2 aux tissus de l'organisme est normal, mais ceux-ci sont dans l'incapacité d'utiliser l'O_2 disponible. L'exemple le plus connu d'une telle hypoxie est l'absorption de poisons métaboliques (e.g. le cyanure) qui bloquent certaines enzymes intervenant dans les processus oxydatifs (e.g. la cytochrome oxydase).

L'hypoxie ischémique (stagnante ou circulatoire) survient en cas d'une baisse du débit sanguin en raison d'un trouble de la circulation. L'hypoxie peut être généralisée (e.g. insuffisance cardiaque) ou plus localisée en cas d'emboles ou de thrombus (e.g. accident vasculaire cérébral). Dans cette variété d'hypoxie, les échanges gazeux pulmonaires sont normaux tout comme la PaO_2.

L'hypoxie hypoxique (**figure 1**) est la conséquence d'une diminution de la PaO_2 (hypoxémie). Dans le contexte clinique, ce type d'hypoxie peut être rencontré en cas de troubles ou anomalies du mécanisme de couplage ventilation-perfusion (e.g. bronchite chronique) ou bien lors d'une perturbation des échanges gazeux pulmonaires (e.g. œdème pulmonaire). Elle correspond aussi à l'hypoxie induite par un environnement extrême[1] connu de tous : la haute montagne. Également appelée « hypoxie d'altitude », celle-ci a la particularité d'être hypobarique car la montée en altitude s'accompagne d'une diminution exponentielle de la pression barométrique qui conduit à une baisse de la PaO_2. Ainsi, la proportion d'O_2 dans l'air inspiré reste inchangée (20,93 %). En laboratoire, l'hypoxie normobarique est généralement privilégiée pour simuler une ascension en altitude, soit par dilution de diazote dans l'air ou par filtration du contenu en O_2 de l'air. L'hypoxie normobare

[1] D'un point de vue strictement biologique, tout milieu caractérisé par des valeurs de paramètres physio-chimiques s'approchant des limites entre lesquelles la vie peut exister (Gargaud 2003).

permet en effet de reproduire les conditions hypoxémiques que nous pouvons rencontrer au cours de l'hypoxie d'altitude, tout en restant au niveau de la mer. L'hypoxie hypoxique peut aussi être causée dans un environnement considéré comme extrême pour l'être humain : la plongée en apnée. Dans ce cas, la pression atmosphérique et le contenu en O_2 ne sont pas modifiés mais c'est l'arrêt volontaire de la respiration qui peut induire une diminution progressive de la PaO_2 dans l'organisme. Enfin, grâce à une technique respiratoire, l'hypoventilation volontaire, il est également possible d'induire une hypoxémie *via* un ralentissement de la fréquence respiratoire.

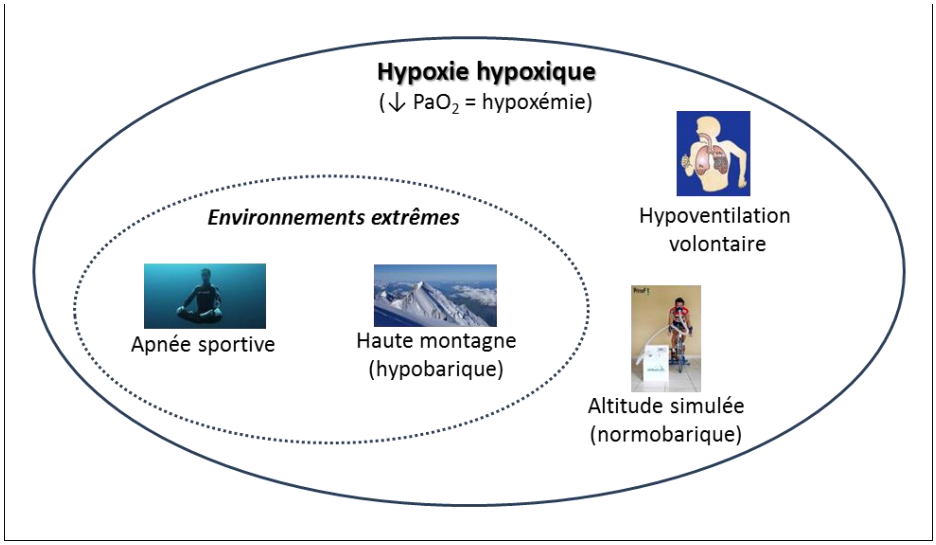


Figure 1 : Les différentes méthodes ou environnements induisant une hypoxie hypoxique.

I.2 Le réflexe de plongée

I.2.1 Généralités

Dans les années 1940, les travaux de Scholander *et coll.* montraient dans une succession d'études expérimentales que l'immersion forcée des mammifères et des oiseaux entraînait un ensemble de manifestations physiologiques dont le but était de prolonger l'activité sous-marine (Scholander 1940; Irving 1942; Scholander et coll. 1942). Paul Bert, physiologiste français, fut toutefois le premier scientifique à observer un ralentissement de la fréquence cardiaque (Fc) chez le canard au cours de l'asphyxie par noyade (Bert 1870). Ces manifestations, désormais reconnues sous le terme de réflexe de plongée (*diving reflex*), se traduisent par une baisse immédiate de la Fc (bradycardie), une chute du débit cardiaque (DC) et une vasoconstriction des territoires périphériques (Foster et Sheel 2005; Lindholm et Lundgren 2009). Parallèlement, une augmentation plus ou moins prononcée de la pression

artérielle et des résistances périphériques totales sont dans la majorité des cas observées (Lindholm et Lundgren 2009). Le réflexe de plongée s'accompagne également de splénocontractions qui permettent une augmentation de la capacité de transport en O_2 (Espersen 2002). À ce jour considéré comme l'un des plus puissants réflexes faisant intervenir le système nerveux autonome (Panneton et coll. 2012), celui-ci est présent chez tous les vertébrés à respiration aérienne, dont l'espèce humaine (Schagatay et Andersson 1998; Lindholm et coll. 1999).

Chez l'être humain, la majorité des études s'intéressant à une meilleure compréhension du réflexe de plongée se sont appuyées sur des protocoles reposant sur la réalisation d'apnées volontaires, i.e. l'interruption temporaire des échanges gazeux entre le système pulmonaire et le milieu atmosphérique. Le réflexe de plongée est donc dans la grande majorité des études simulé à l'aide d'une apnée, accompagnée ou non d'une immersion du visage. Il est également possible de reproduire, dans une moindre mesure, les manifestations physiologiques de ce réflexe en exposant uniquement le visage au froid (*cold face test*) mais ce type de protocole se limite généralement au contexte clinique (Khurana et coll. 1980).

I.2.2 L'économie d'O_2

I.2.2.1 *Ajustements cardio-vasculaires*

Les manifestations cardio-vasculaires du réflexe de plongée ont pour premiers objectifs d'économiser les stocks en O_2 de l'organisme en faveur des organes nobles tels que le cœur et le cerveau (**figure 3**) (Andersen 1966; Lindholm et Lundgren 2009). Ce principe d'économie a été défini comme l'ensemble des modifications hémodynamiques ralentissant la baisse des pressions partielles en O_2 ainsi que la désaturation artérielle en O_2 au cours d'une apnée (Lindholm et coll. 1999). Le réflexe de plongée apparaît avant tout signe d'asphyxie (Schagatay 2009) ; il constitue donc un mécanisme de protection pour l'organisme dont le but est de préserver les stocks en O_2 et retarder l'hypoxie tissulaire (Alboni et coll. 2011).

Au début d'une apnée volontaire en fin d'inspiration, une augmentation de la pression intrathoracique (pression à l'intérieur du thorax positive) est systématiquement observée (Ferrigno et coll. 1986). Les interactions cardio-pulmonaires montrent qu'une augmentation de la pression intrathoracique provoque une redistribution du volume sanguin central vers la périphérie (Ley et coll. 2006). Plus précisément, la hausse de la pression intrathoracique chez un sujet sain s'accompagne d'une chute des pressions transmurales télédiastoliques des deux ventricules, de leurs volumes d'éjection télédiastoliques, ce qui entraine *in fine* une

diminution du volume d'éjection systolique (VES) (Tyberg et coll. 2000). Parallèlement, la bradycardie d'origine vagale entraîne une baisse rapide du DC et du débit sanguin pulmonaire (Foster et Sheel 2005). Sachant que les échanges gazeux au niveau des poumons dépendent principalement du débit sanguin pulmonaire, la chute de ce dernier favorise par conséquent un ralentissement des échanges gazeux au niveau de la membrane alvéolo-capillaire (Liner et Linnarsson 1994). Au même moment, la vasoconstriction périphérique d'origine sympathique des lits vasculaires déclenchée par l'apnée provoque une augmentation du contenu artériel en O_2 par rapport au contenu veineux en O_2 (sang veineux mêlé). La vasoconstriction périphérique et la baisse du débit cardiaque agissent de façon synergique pour préserver les quantités d'O_2 contenues dans les poumons au détriment des stocks en O_2 du sang veineux mêlé (Liner et Linnarsson 1994; Andersson et coll. 2004). Au final, ces deux phénomènes permettent en début d'apnée :

- Une redistribution de la circulation (baisse du débit sanguin périphérique) afin de garantir un apport en O_2 et une perfusion suffisante des organes nobles (e.g. cœur, cerveau). Cette redistribution se traduit par une augmentation du débit sanguin cérébral (Kannurpatti et coll. 2002; Przybylowski et coll. 2003; Joulia et coll. 2009) et myocardique (Guensch et coll. 2013) pendant l'apnée.
- Une économie du contenu artériel en O_2 *via* le ralentissement de la chute des pressions alvéolaires en O_2, des pressions partielles en oxygène (PaO_2) et de la saturation artérielle en oxygène (SaO_2) (Andersson et coll. 2002).

I.2.2.2 *Contractions de la rate*

La rate est un organe mou situé du côté gauche de la cavité abdominale. Elle est composée de deux types de tissus : la pulpe blanche et la pulpe rouge. La pulpe blanche renferme des follicules lymphoïdes jouant de multiples rôles dans les processus faisant intervenir le système immunitaire (Mebius et Kraal 2005). La pulpe rouge, dont la superficie représente la plus grande partie de la rate, constitue quant à elle un important « réservoir » d'érythrocytes. La rate peut en effet accueillir 200 à 250 mL de sang, ce qui correspond approximativement à 10% du volume érythrocytaire total chez l'adulte (Rushmer 1989; Stewart et McKenzie 2002). Elle possède la faculté de se contracter (présence de protéines contractiles), lui permettant ainsi de réduire son volume érythrocytaire grâce à l'activation des récepteurs α-adrénergiques du système nerveux sympathique (Ayers et coll. 1972). Les contractions de la rate peuvent être observées dans des conditions où des augmentations transitoires de la capacité de transport de l'O_2 sont exigées telles que celles de l'exercice (Laub et coll. 1985;

Flamm et coll. 1990) ou lors d'une exposition à l'hypoxie (Lodin-Sundström et Schagatay 2010).

En 2001, Schagatay *et coll.* ont démontré que l'apnée déclenchait des contractions de la rate dont l'intensité était suffisamment importante pour augmenter le nombre de globules rouges circulants (Schagatay et coll. 2001). La polycythémie observée ne provenait pas d'une hémoconcentration et celle-ci était par ailleurs absente chez des sujets splénectomisés, démontrant que l'élévation des paramètres hématologiques était très probablement corrélée aux contractions de la rate (Schagatay et coll. 2001; Bakovic et coll. 2005). Cette hypothèse a par la suite été confirmée par des observations directes d'une baisse du volume de la rate par IRM ou ultra-son (**figure 2**) (Palada et coll. 2007a; Yusuke et coll. 2013; Sperlich et coll. 2014).

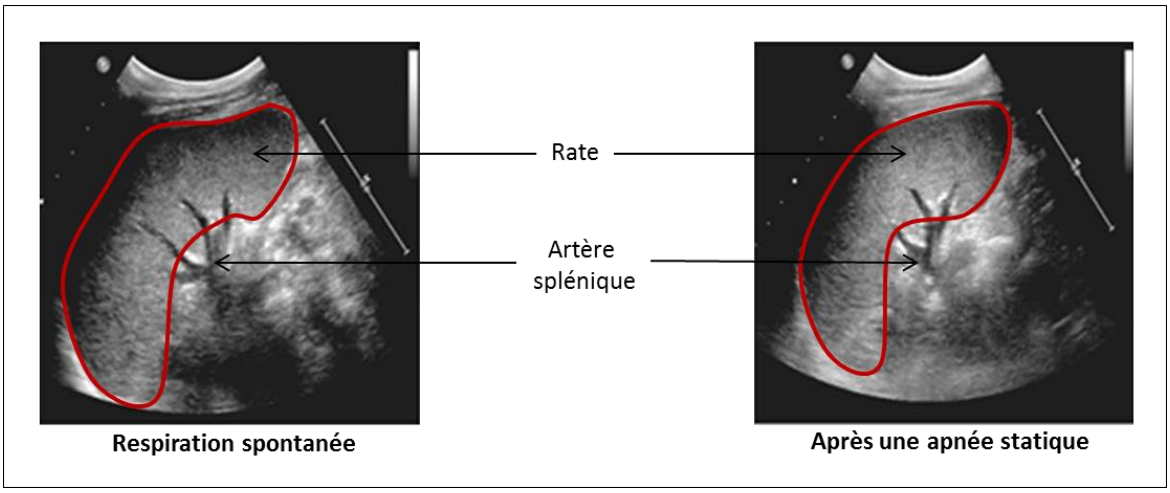


Figure 2 : Images par ultra-son de l'évolution du volume érythrocytaire de la rate avant et après une apnée statique (d'après Sperlich *et coll.* 2014).

Les contractions de la rate apparaissent avant la bradycardie (Baković et coll. 2003; Schagatay et coll. 2007) et celles-ci ont pour but d'accroître la capacité de transport et de stockage de l'O_2. Ces dernières font partie intégrante des manifestations physiologiques du réflexe de plongée et jouent donc, au même titre que les ajustements cardio-vasculaires, un rôle clé dans l'économie des stocks en O_2 lors d'une apnée (Espersen 2002).

Un schéma de synthèse regroupant les effets du réflexe de plongée sur le principe d'économie d'O_2 est présenté dans la figure ci-dessous (**figure 3**).

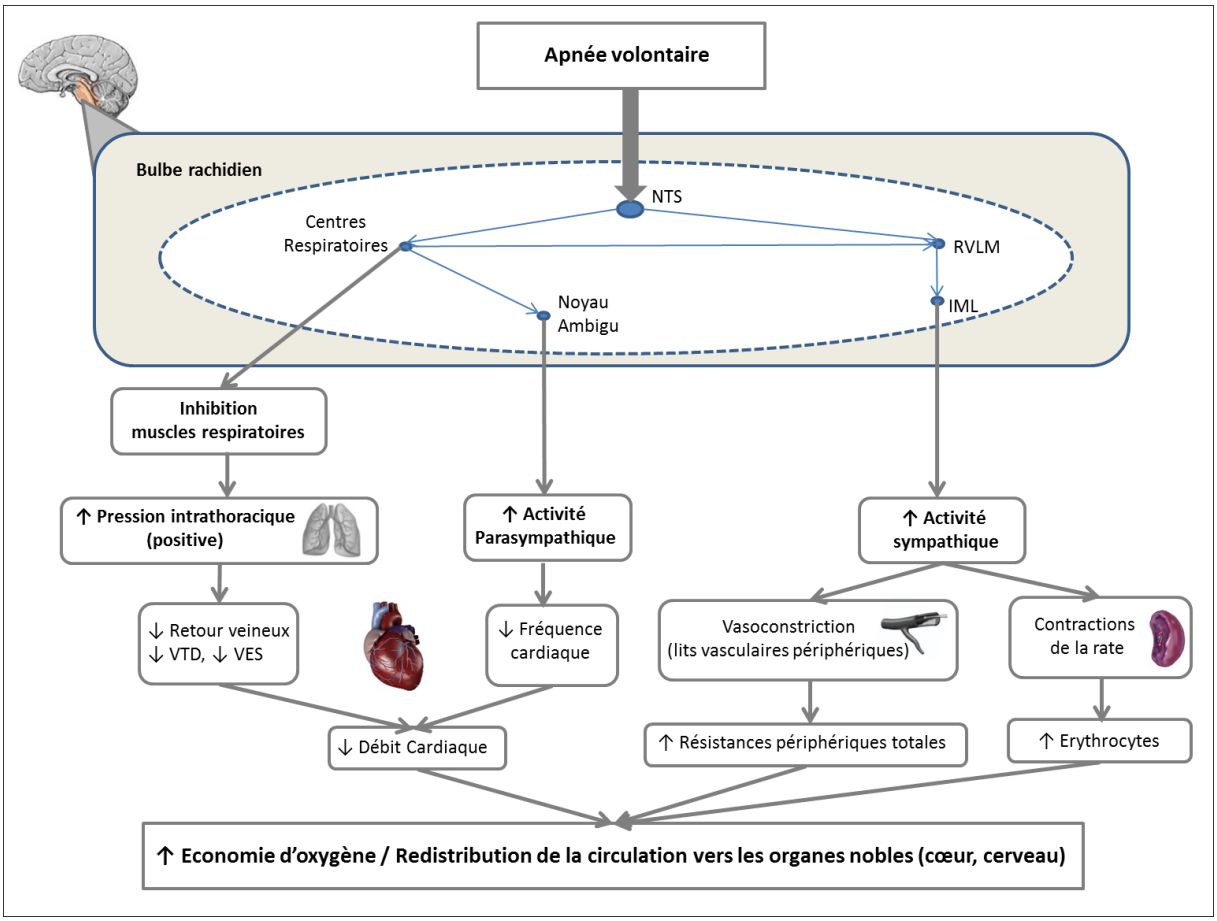


Figure 3 : Réponses hémodynamiques, ventilatoires et hématologiques chez l'être humain au début d'une apnée volontaire. Ces modifications favorisent l'économie d'O_2 et une redistribution de la circulation sanguine périphérique en direction du cœur et du cerveau. NTS : Noyau du tractus solitaire ; IML, colonne intermédio-latérale ; RVLM, médulla ventrolatérale rostrale ; VTD, volume télédiastolique ; VES ; volume d'éjection systolique ; Fc, fréquence cardiaque.

I.3 Facteurs influençant le réflexe de plongée

I.3.1 Immersion et température

Chez l'être humain, l'apnée suffit à elle-même pour l'initiation du réflexe de plongée (Foster et Sheel 2005; Perini et coll. 2008). L'appellation « réflexe de plongée » peut donc apparaître trompeuse, le milieu aquatique n'étant pas une condition *sine qua non* pour l'initiation de ce réflexe. En effet, comme l'illustre la **figure 3**, l'apnée *per se* entraîne une activation des neurones contenus dans le noyau du tractus solitaire (NTS). Ces neurones se projettent ensuite, *via* un réseau d'interneurones, vers les neurones glutamatergiques contenus dans la médulla ventrolatérale rostrale (RVLM). La RVLM, siège de la régulation du système nerveux sympathique, déclenche une activation des réseaux sympathiques périphériques grâce

à un relais dans la colonne intermédio-latérale et les neurones préganglionnaires sympathiques (**figure 3**) (Foster et Sheel 2005; Panneton 2013). Parallèlement, l'activation des neurones du NTS, après relais synaptiques dans les centres respiratoires, provoque une activation des neurones préganglionnaires parasympathiques qui se projettent directement du noyau ambigu vers les neurones postganglionnaires parasympathiques (Choate et coll. 2014). Ces neurones innervent en grande partie le nœud sinusal, ce qui déclenche *in fine* une bradycardie et un ralentissement de la conduction du nœud atrio-ventriculaire (Rozloznik et coll. 2009; Choate et coll. 2014).

Dans les années 1960, des études ont mis en évidence que l'apnée associée à une immersion du visage amplifiait les réponses cardiovasculaires du réflexe de plongée (Kawakami et coll. 1967; Whayne et Killip 1967; Asmussen et Kristiansson 1968; Song et coll. 1969). Confirmées dans des études plus récentes (**figure 4**), ces observations s'expliquent par la présence au niveau du visage d'une forte densité de récepteurs cutanés sensibles à la température et à la pression (Schuitema et Holm 1988; Marsh et coll. 1995; Andersson et coll. 2000; Andersson et coll. 2004; Schagatay et coll. 2007; Choate et coll. 2014). L'amplification des manifestations hémodynamiques du réflexe de plongée se traduit par un ralentissement de la désaturation artérielle en O_2 au cours de l'apnée, ce qui renforce l'économie d'O_2 (**figure 4**) (Andersson et Schagatay 1998; Andersson et coll. 2002; Andersson et Evaggelidis 2009). En revanche, l'immersion du visage n'aurait pas d'effet sur les contractions de la rate (Schagatay et coll. 2007). Localisés au niveau du front, de la région périorbitaire et des fosses nasales (Dutschmann et Herbert 1996), la sollicitation de ces récepteurs sensibles à la température et la pression amplifie la bradycardie en stimulant le nerf ethmoïdal antérieur (de Luschka) et infraorbital, appartenant respectivement aux ramifications maxillaires et ophtalmiques de la voie trigéminale (McCulloch et coll. 1999; Panneton et coll. 2000; Panneton 2013).

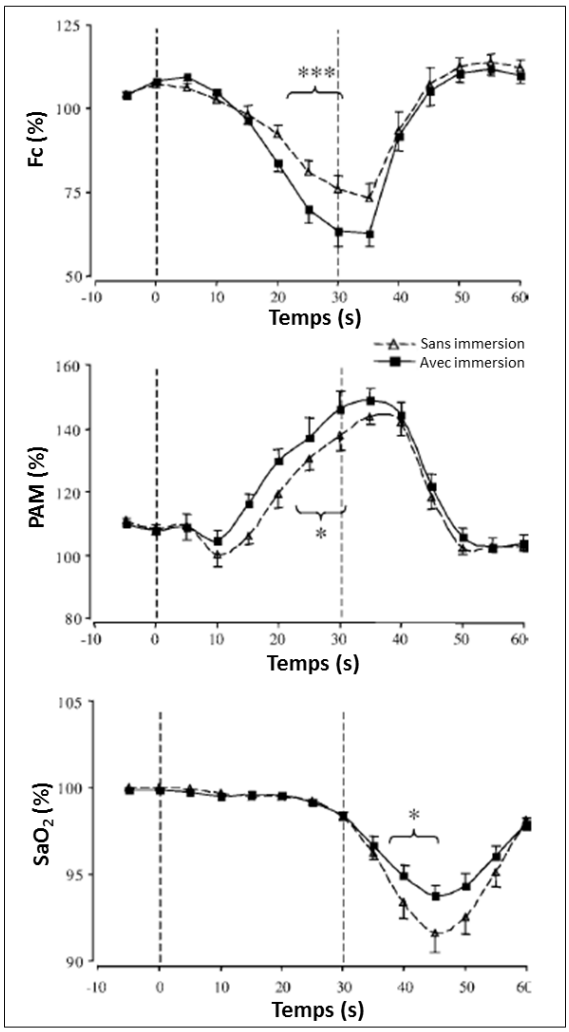


Figure 4 : Comparaison entre une apnée dynamique de 30 secondes avec et sans immersion du visage sur la fréquence cardiaque (Fc), la pression artérielle moyenne (PAM) et la saturation artérielle en oxygène (SaO_2). Dans cet exemple, la SaO_2 atteint sa valeur minimale après l'apnée. Ce délai est normal car il représente le temps nécessaire à la circulation sanguine d'atteindre la sonde de l'oxymètre de pouls. Les traits verticaux (en pointillé) indiquent le début et la fin de l'apnée. $*p < 0,05$; $***p < 0,001$ entre les deux conditions (d'après Andersson *et coll.* 2002).

Parallèlement, la bradycardie s'accompagne d'un renforcement de la vasoconstriction périphérique et d'une hausse du débit sanguin cérébral (Andersson et coll. 2002; Kjeld et coll. 2009). L'exposition du visage au froid (sans apnée ni immersion de la face) et l'immersion du visage (sans apnée) conduisent à des manifestations physiologiques comparables au réflexe de plongée, ce qui confirme l'implication de ces récepteurs lors d'une apnée avec immersion du visage (Khurana et Wu 2006; Khurana 2007). Ces derniers sont d'autant plus stimulés que la température est basse. Il est désormais considéré qu'une relation inversement proportionnelle existe entre la température de l'eau et l'amplitude du réflexe de plongée, ainsi qu'entre l'amplitude du réflexe de plongée et le principe d'économie d'O_2 (Gooden 1994; Lindholm et

Lundgren 2009). Toutefois, lorsque la température atteint des valeurs relativement basses (< 10°C), un phénomène physiologique paradoxal peut apparaître (*cold shock response*) et une tachycardie est alors constatée à la place de la bradycardie (Stocks et coll. 2004; Barwood et coll. 2006; Jay et coll. 2007). Schagatay *et coll.* ont montré que la température ambiante constituait, au même titre que la température d'exposition des récepteurs cutanés, une variable d'ajustement du réflexe de plongée. Ainsi, il semblerait que plus la différence de température entre l'air ambiant et l'eau est importante et plus le réflexe de plongée tendrait à se renforcer (Schagatay et Holm 1996).

Les travaux évaluant les effets de l'immersion sur l'amplification du réflexe de plongée se sont généralement appuyés sur la réalisation d'une apnée « simulée » (**figure 5**). Privilégiée en laboratoire, cette technique est utilisée pour déclencher le réflexe de plongée et consiste à immerger le visage à l'aide d'une bassine contenant de l'eau lors d'une apnée au repos (apnée statique simulée, **figure 5a**) ou à l'effort (apnée dynamique simulée, **figure 5b**).

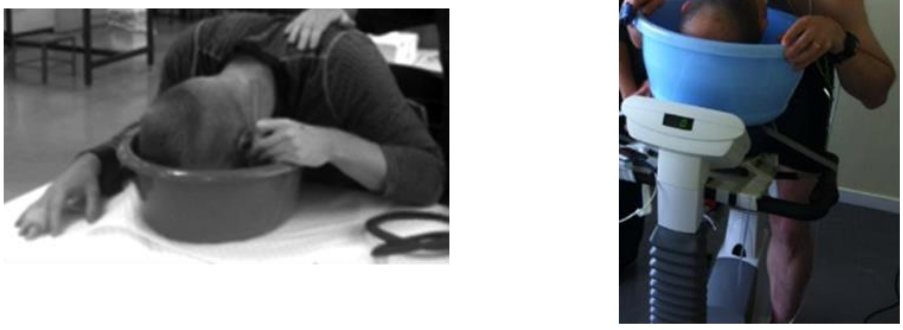


Figure 5 : Apnée statique et dynamique « simulée ». Dans ces deux exemples, les sujets immergent leur visage dans une bassine d'eau froide (15°C) (figure 5a : d'après Choate *et coll.* 2014 ; figure 5b : Projet FreeHypox).

Ainsi, rares sont les études prenant place dans un contexte réel de pratique de l'apnée compétitive qui comprennent une immersion complète de l'individu (Lemaitre et coll. 2005; Marabotti et coll. 2008; Marabotti et coll. 2009; Tocco et coll. 2012b). Parmi ces études, aucune d'entre elles n'a étudié les répercussions hémodynamiques du réflexe de plongée sur le principe d'économie d'O_2 pendant l'apnée en immersion (**figure 6**) (Marabotti et coll. 2008; Tocco et coll. 2012b; Lemaitre et coll. 2013). L'immersion pourrait en effet influencer le réflexe de plongée, et notamment la bradycardie, en raison de la pression hydrostatique

exercée par l'environnement aquatique. Les effets de l'immersion au repos tête hors de l'eau et à neutralité thermique (34-36°C) entraînent, sous l'influence de la pression hydrostatique, une redistribution du volume sanguin périphérique contenu dans les lits vasculaires vers le thorax et l'abdomen (Arborelius et coll. 1972). Il est généralement considéré que deux tiers du volume sanguin provenant des lits vasculaires se rendent au niveau du système pulmonaire et qu'un tiers est destiné à la pompe cardiaque (Becker et coll. 2009). Il en résulte ainsi une augmentation du retour veineux, du remplissage ventriculaire, du VES, provoquant une bradycardie d'origine vagale par stimulation des barorécepteurs (**figure 6**) (Mourot et coll. 2008).

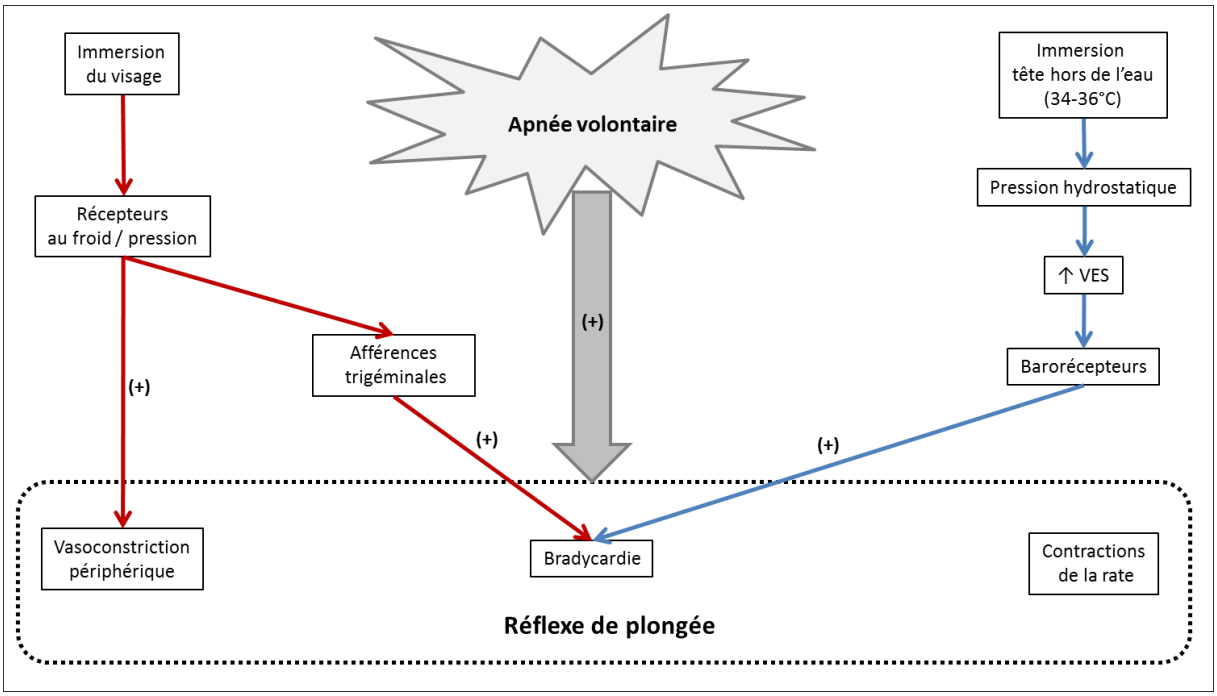


Figure 6 : Effets de l'immersion du visage et de l'immersion totale (tête hors de l'eau) sur les principaux déterminants du réflexe de plongée. (+), stimulation ; (-), inhibition.

La pratique en situation réelle de l'apnée reste ainsi encore méconnue et nécessite donc d'autres études, notamment sur le plan hémodynamique, afin de mieux comprendre les effets du réflexe de plongée sur l'économie d'O_2 et ses possibles implications cardio-vasculaires (**figure 7, étude 1a**).

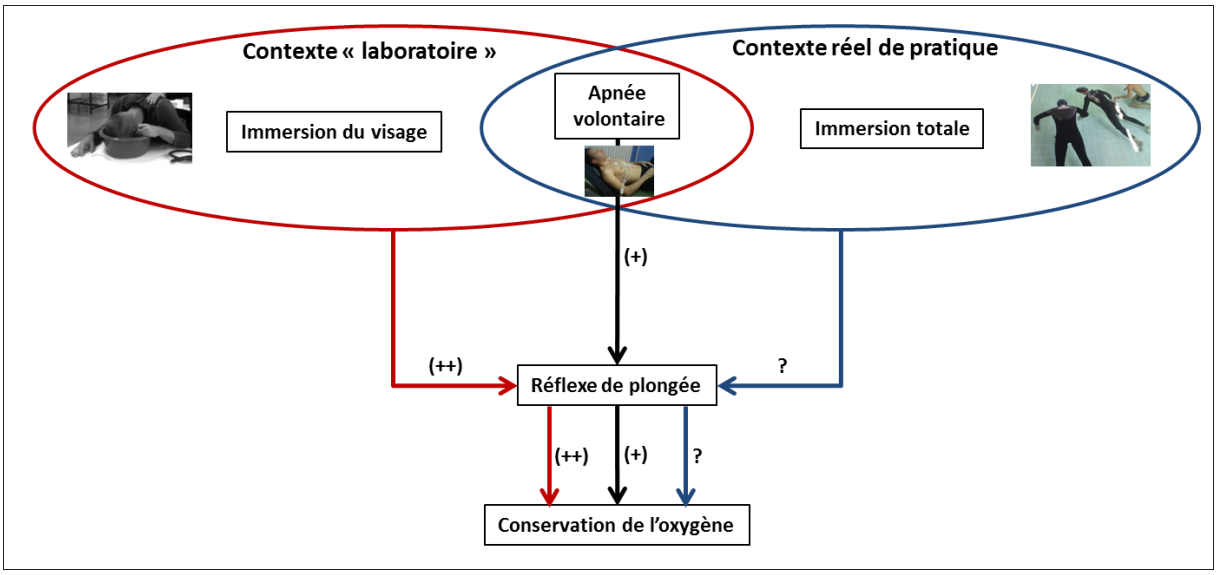


Figure 7 : Effets de l'apnée avec ou sans immersion sur le réflexe de plongée et l'économie d'O_2.

I.3.2 L'exercice

Les ajustements cardiovasculaires en début et au cours de l'exercice dépendent du système nerveux autonome (Mitchell 2013). Dès les premières contractions musculaires, deux réflexes contrôlés par le système végétatif s'activent pour répondre à la demande métabolique des muscles squelettiques et réguler la pression artérielle :

- Le premier, appelé la « commande centrale » (Goodwin et coll. 1972), émerge de l'activation des centres cardio-vasculaires bulbaires (Iellamo 2001; Mitchell 2013).
- Le second, le « réflexe de la pression à l'exercice » (Mitchell et coll. 1983), provient des récepteurs intramusculaires (mécanorécepteurs et chimiorécepteurs). Ce réflexe regroupe le métaboréflexe et le méchanoréflexe qui sont respectivement sensibles à la distension des fibres musculaires et à l'accumulation de métabolites musculaires (Boushel 2010; Nobrega et coll. 2014).

L'activation de ces deux puissants réflexes convergent tous deux vers une rupture de la balance autonomique de repos. Ceci se traduit par une augmentation de l'activité sympathique cardiaque (centrale) et une baisse simultanée de l'activité parasympathique (Iellamo 2001). Ces modifications se manifestent au début de l'exercice par une accélération de la Fc (tachycardie), du VES, du DC et de la pression artérielle. Ces changements s'accompagnent également d'une vasodilatation des réseaux vasculaires des muscles sollicités qui est compensée par une vasoconstriction des territoires vasculaires non sollicités par l'exercice (Nobrega et coll. 2014). Sachant que l'apnée s'accompagne d'une bradycardie, d'une baisse

du VES et d'une vasoconstriction périphérique, les adaptations du système nerveux végétatif au cours de l'exercice, qu'elles soient centrales ou périphériques, s'opposeraient donc au réflexe de plongée (**figure 8**).

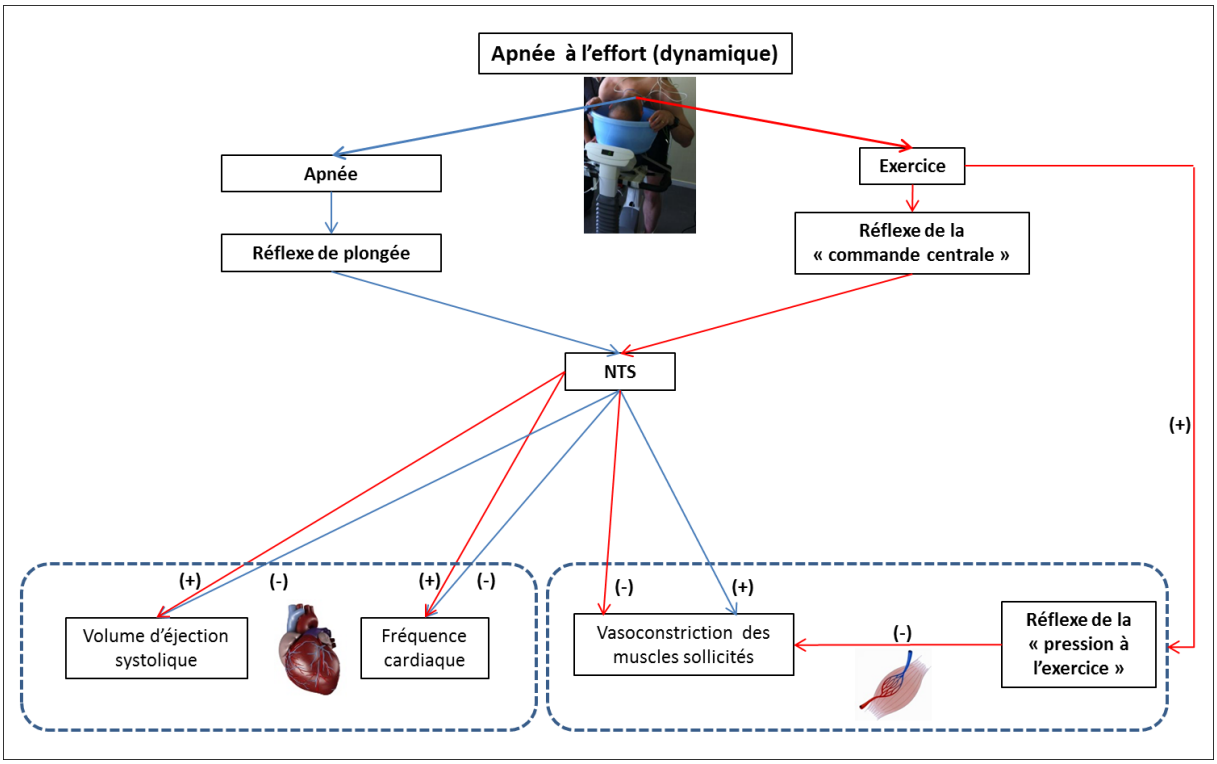


Figure 8 : Effets d'une apnée dynamique sur les ajustements cardiovasculaires. NTS, Noyau du faisceau solitaire ; (+), stimulation ; (-), inhibition.

Pourtant, certains travaux ont observé une prédominance de la bradycardie sur la tachycardie induite par l'exercice, comme l'indiquent les Fc de fin d'apnée dynamique inférieures aux Fc de repos (Stromme et coll. 1970; Bergman et coll. 1972). L'analyse des cinétiques de la Fc montre que la tachycardie induite par l'exercice prédominerait tout de même pendant les premières secondes de l'apnée dynamique (10 s - 15 s) tandis que la bradycardie fréquemment observée en fin d'apnée témoignerait d'une prédominance du réflexe de plongée (**figure 9**) (Butler et Woakes 1987; Wein et coll. 2007; Andersson et Evaggelidis 2009).

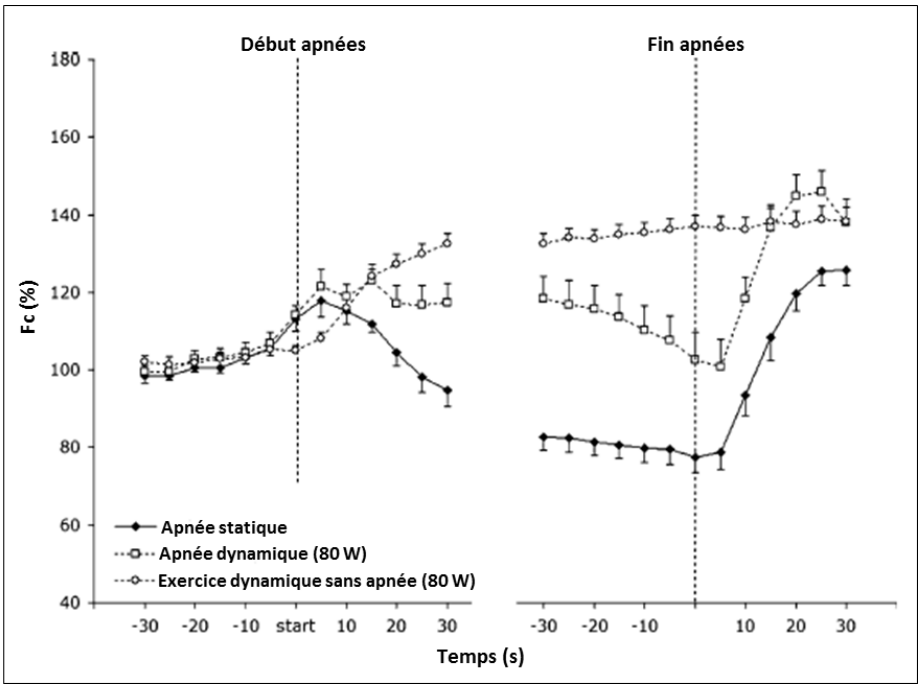


Figure 9 : Comparaisons des cinétiques de la fréquence cardiaque (Fc) à l'effort (sans apnée), pendant l'apnée statique et l'apnée dynamique (d'après Wein *et coll.* 2007).

I.3.3 L'entraînement

Chez l'être humain, la plupart des études s'étant intéressées à la capacité du réflexe de plongée d'économiser les stocks en O_2 se sont appuyées sur la comparaison d'apnées avec ou sans immersion de la face (Kawakami et coll. 1967; Whayne et Killip 1967; Furedy et coll. 1983; Schuitema et Holm 1988; Sterba et Lundgren 1988; Andersson et Schagatay 1998; Andersson et coll. 2002; Andersson et coll. 2004; Andersson et coll. 2008; Andersson et Evaggelidis 2009; de Bruijn et coll. 2009). Étonnamment, peu d'équipes de recherche se sont intéressées aux bénéfices jugés prometteurs de l'entraînement en apnée sur les cinétiques cardiovasculaires du réflexe de plongée dans le but d'accroître l'économie des stocks en O_2 (Delahoche et coll. 2005; Lemaitre et coll. 2005). Chez des sujets sains non familiarisés avec l'apnée, ce type d'entraînement sur le court terme, i.e. la répétition successive de 3 à 5 apnées statiques (45 s à 3 min de récupérations entre les apnées) aurait un effet bénéfique sur le temps d'apnée (Vasar et Kingisepp 1981; Hentsch et Ulmer 1984). En revanche, il n'influencerait pas les patterns cardiovasculaires du réflexe de plongée ni l'économie d'O_2, ce qui démontre l'implication de facteurs psychologiques à l'origine de l'allongement de la durée de l'apnée (Schagatay et coll. 1999). À l'inverse, deux semaines d'entraînement quotidien à l'apnée statique sont marquées par une augmentation du temps d'apnée maximal, d'une meilleure tolérance à l'hypoxie et d'une atténuation de la désaturation en O_2 lors d'une

apnée maximale (Schagatay et coll. 2000; Engan et coll. 2013). Un déclenchement plus précoce et plus prononcé du réflexe de plongée après entraînement serait à l'origine du ralentissement de la désaturation en O_2 (Tocco et coll. 2012a; Engan et coll. 2013).

Chez des sujets non entraînés à l'apnée, Caspers et coll. (2011) ont montré que la cinétique de la bradycardie de l'apnée statique suivait une décroissance mono-exponentielle (**figure 10**) (Caspers et coll. 2011). Ce modèle mono-phasique permettrait de quantifier la bradycardie lors d'une apnée avec (R^2 = 0,94) ou sans immersion du visage (R^2 = 0,93) (Caspers et coll. 2011). En revanche, celui-ci ne s'ajusterait pas à la bradycardie au cours d'une apnée à l'effort (Caspers et coll. 2011).

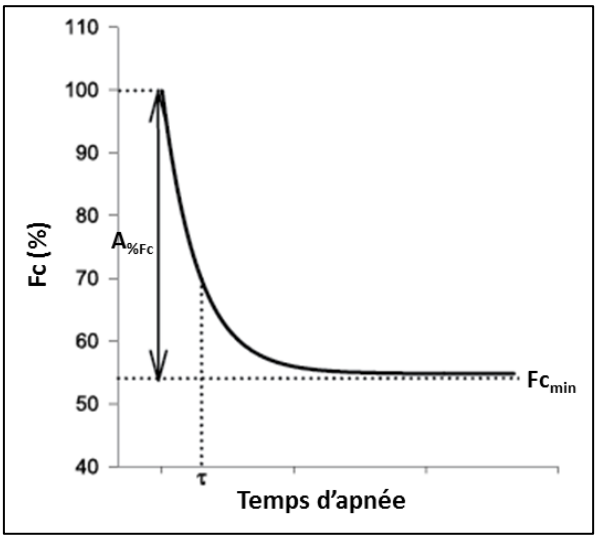


Figure 10 : Paramètres du modèle mono-exponentiel proposé par Caspers *et coll.* (2011) s'ajustant à la bradycardie d'une apnée statique chez des sujets non entraînés à l'apnée. Fc_{min}, Fréquence cardiaque minimale de fin d'apnée ; $A_{\%Fc}$, Amplitude de la bradycardie ; τ, constante de temps de la décroissance exponentielle, i.e. le temps nécessaire pour atteindre 63 % de la Fc) (d'après Costalat *et coll.* 2015).

Les cinétiques cardiovasculaires que nous pouvons rencontrer au cours de l'apnée chez les apnéistes entraînés sont sensiblement différentes des cinétiques provenant d'apnées de sujets non entraînés (**figure 11)** (Lemaître et coll. 2008; Perini et coll. 2008). Lemaitre *et coll.* (2008) ont en effet montré que les cinétiques de la bradycardie étaient bi-phasiques lors d'apnées de plusieurs minutes chez des apnéistes de haut niveau (Lemaître et coll. 2008). Dans cette étude, le groupe contrôle et les apnéistes possèdent une bradycardie identique jusqu'à ~60% du temps d'apnée (phase 1, **figure 11**). Passé 60 % du temps d'apnée, les apnéistes déclenchent une seconde bradycardie dont l'amplitude maximale est atteinte au

terme de l'apnée (phase 2, **figure 11**). Au même moment, cette accentuation de la bradycardie n'est pas présente chez le groupe contrôle.

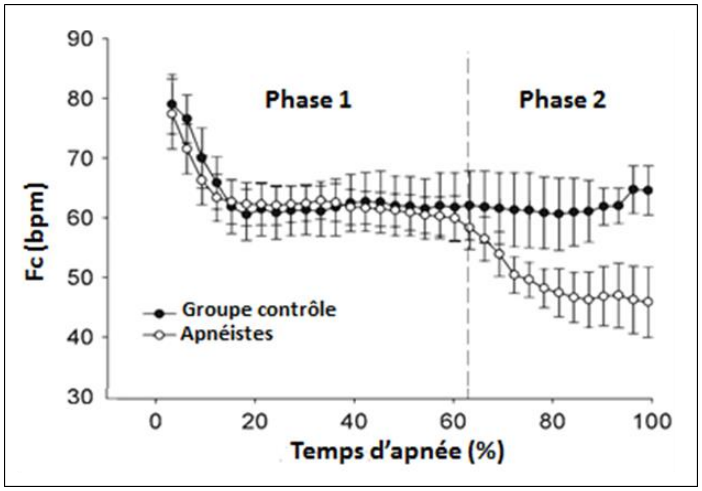


Figure 11 : Comparaison des cinétiques de la fréquence cardiaque (Fc) entre des apnéistes de haut niveau et un groupe contrôle. Le temps est exprimé en pourcentage du temps d'apnée de chaque groupe. La ligne en pointillé illustre la composante bi-phasique de la bradycardie chez les apnéistes (d'après Lemaitre *et coll.* 2008).

L'hypercapnie et/ou l'hypoxémie sont les facteurs ayant été proposés pour expliquer l'accentuation de la bradycardie chez les apnéistes (phase 2) (Lemaître et coll. 2008; Perini et coll. 2008; Guaraldi et coll. 2009). Pendant l'apnée, l'augmentation progressive de la pression partielle en gaz carbonique favoriserait un retour des contractions du diaphragme, une hausse du retour veineux et du VES, ce qui déclencherait une bradycardie d'origine vagale *via* la stimulation des barorécepteurs carotidiens (Palada et coll. 2008; Perini et coll. 2008; Perini et coll. 2010). Parallèlement, la fin d'apnée s'accompagne généralement d'une hypoxémie, un phénomène qui serait particulièrement vrai chez les apnéistes capables de maintenir des apnées de plusieurs minutes (**figure 12**) (Stewart et coll. 2005). L'hypoxémie induite par l'apnée pourrait donc aussi contribuer à l'augmentation de la bradycardie en stimulant les chémorécepteurs périphériques (Lemaître et coll. 2008).

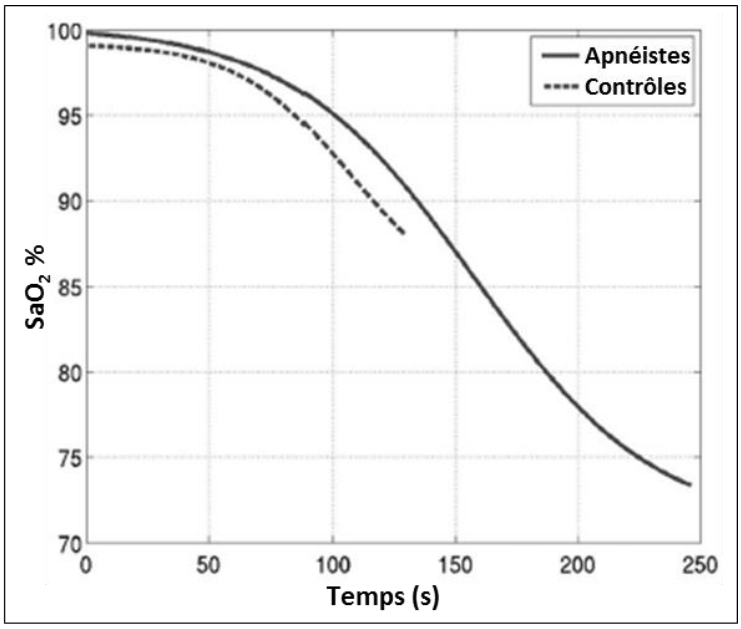


Figure 12 : Evolution de la saturation artérielle en O_2 chez des apnéistes et des sujets témoins lors d'une apnée statique (d'après Stewart *et coll.* 2005).

L'entraînement à l'apnée modifierait de façon substantielle les cinétiques hémodynamiques du réflexe de plongée sous les effets de l'hypoxemie et/ou de l'hypercapnie. Il est donc probable que les paramètres issus du modèle mono-phasique de Caspers *et coll.* ne soient pas en mesure de quantifier la cinétique de la bradycardie de sujets s'entraînant régulièrement à l'apnée. La modélisation de la bradycardie a pour l'instant seulement été étudiée sur des apnées statiques de courtes durées (< 60 s) chez des sujets non entraînés à l'apnée (**figure 13**).

La construction d'un nouveau modèle et de nouveaux paramètres adaptés à la bradycardie des apnéistes permettraient donc de mieux comprendre les effets de l'entraînement à l'apnée sur le réflexe de plongée ainsi que son aptitude à économiser les stocks en O_2 (**études 1b et 2**).

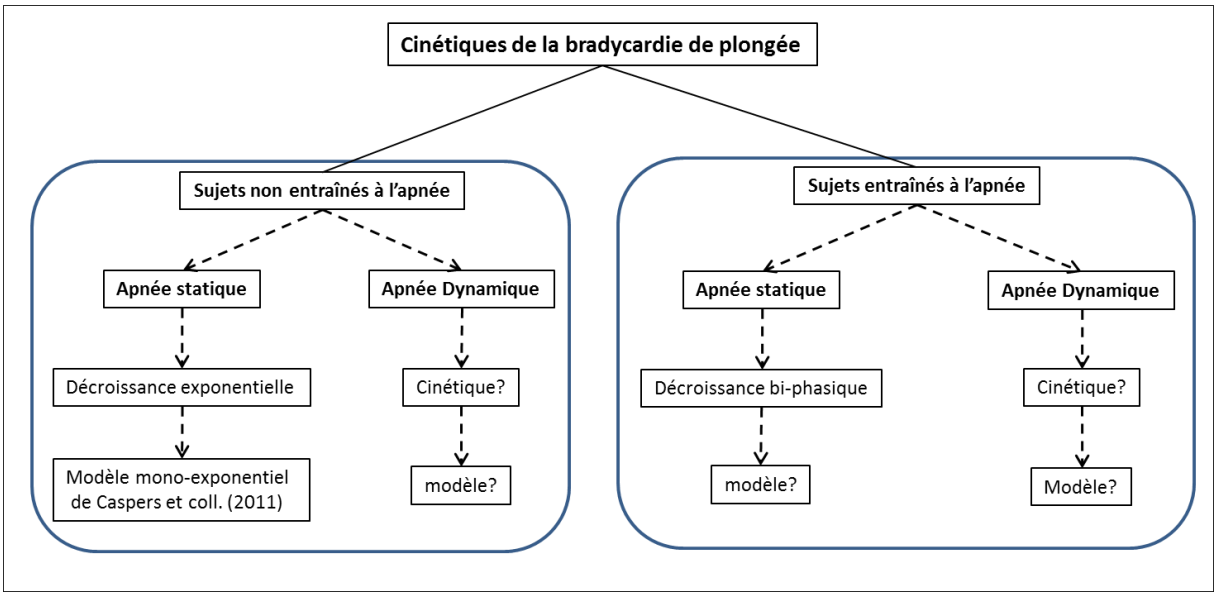


Figure 13 : Modèles décrivant les cinétiques de la bradycardie au repos et à l'effort en fonction du niveau d'entraînement.

I.3.4 Autres facteurs

Présentes dès le plus jeune âge (Goksor et coll. 2002; Pedroso et coll. 2012), les manifestations physiologiques déclenchées par le réflexe de plongée tendent à s'atténuer au cours de la vie (West et coll. 2001). Il a en effet été montré par l'équipe de West *et coll.* (2001) que ce réflexe se déclenchait plus rapidement chez les jeunes et qu'il était davantage prononcé chez l'adolescent (11-14 ans) que chez l'adulte (33-48 ans). L'augmentation de l'activité sympathique au niveau du cœur *via* l'inhibition progressive de la recapture neuronale de la noradrénaline pourrait être responsable en partie de l'atténuation du réflexe de plongée (Seals et Esler 2000).

Les différences inter-sexe influenceraient aussi le réflexe de plongée. En effet, quelques études ont mis en avant une bradycardie plus prononcée chez l'homme que chez la femme (Sebert et Sanchez 1981; Sanchez et Sebert 1983), bien qu'une récente étude n'ait pas observé de différence (Cherouveim et coll. 2013). Si cette différence existe, elle semblerait toutefois s'atténuer quand les sujets s'entraînent régulièrement à l'apnée (Tocco et coll. 2012a). Plus récemment, Patel et coll. (2014) ont observé, pendant l'apnée volontaire, une hausse de la vasoconstriction et des résistances périphériques de l'avant-bras chez de jeunes femmes par rapport à un groupe composé de jeunes hommes, mais que cette différence n'existait plus chez les femmes ménopausées. Les auteurs ont donc conclu que le système hormonal féminin (œstradiol et progestérone) atténuait les manifestations d'origine sympathique du réflexe de plongée (Patel et coll. 2014).

Enfin, la posture, les traits génétiques, les facteurs psychologiques et émotionnels (e.g. stress) sont autant de causes pouvant également influencer l'amplitude du réflexe de plongée (Gooden 1994; Delapille et coll. 2001; Taneja et coll. 2010; Caspers et coll. 2011). Ces derniers, souvent négligés dans la littérature, ont très probablement suscité les nombreux débats sur l'existence ou non de ce réflexe chez l'être humain (Caspers et coll. 2011) tout comme sa réelle faculté à économiser les stocks en O_2 au cours d'une apnée (Andersson et Schagatay 1998).

Dans cette partie, nous avons montré que les manifestations cardio-vasculaires du réflexe de plongée permettaient d'économiser les stocks en O_2 au cours de l'apnée, bien que ses effets demeurent méconnus dans un contexte réel de pratique. Cependant, le réflexe de plongée et ses stimuli associés possèdent certaines limites sur le plan de l'économie d'O_2. En effet, les manifestations cardio-vasculaires du réflexe de plongée n'empêchent pas une hypoxémie en fin d'apnée, notamment lorsque celle-ci se prolonge pendant plusieurs minutes. Les apnéistes sont donc fréquemment confrontés à la répétition de brefs épisodes hypoxémiques au cours de leur session d'entraînements. L'apnée pourrait ainsi avoir des caractéristiques communes avec certains protocoles hypoxiques utilisés dans l'amélioration des performances en altitude ou pour réduire la prévalence des pathologies liées à l'hypoxie d'altitude.

I.4 Stratégies de pré-acclimatation à l'hypoxie d'altitude

I.4.1 Performances sportives et pathologies d'altitude

Lors d'une ascension en haute altitude, les performances aérobies sont fortement atténuées chez les personnes habituées à résider au niveau de la mer (Fulco et coll. 1998). Il a été démontré que ce phénomène était très fortement corrélé à la baisse du contenu artériel en O_2 et de la SaO_2 (Chapman et coll. 1999). Ceci s'explique par une limitation de la diffusion alvéolo-capillaire plus prononcée en altitude en raison la baisse de la pression partielle en O_2 de l'air en altitude (Amann 2012), un phénomène d'autant plus marqué chez les sportifs s'entraînant régulièrement au niveau de la mer (Mollard et coll. 2007). De ce fait, le $\dot{V}O_{2max}$ décroît en fonction de l'altitude à laquelle le sujet est exposé (**figure 14**) (Richalet 2012). Ces dernières années, plusieurs études ont montré que des stratégies de pré-acclimatation comprenant de brefs épisodes hypoxiques étaient en mesure d'atténuer la baisse des performances sportives en moyenne ou haute altitude (Terrados et coll. 1988; Beidleman et coll. 2003; Dufour et coll. 2006; Bartsch et coll. 2008; Beidleman et coll. 2008).

Les protocoles hypoxiques suscitent également un intérêt grandissant dans la prophylaxie des pathologies liées à l'hypoxie d'altitude dont la forme la plus courante est le « mal aigu des montagnes » (Ricart et coll. 2000; Tannheimer 2010; Wille et coll. 2012; Fulco et coll. 2013). Cette pathologie est synonyme d'une acclimatation à l'altitude naturelle dite « incomplète » (Richalet 2012) et les premiers symptômes sont susceptibles d'apparaître après quelques heures d'ascension (6-10 heures) dès 1800 mètres d'altitude (Karinen et coll. 2010). Sa prévalence est d'environ 10% pour des ascensions jusqu'à 2500 mètres (Schoene 2008) et peut atteindre 30 à 40 % à 3500 mètres d'altitude (Netzer et coll. 2013). Le mal aigu des montagnes se caractérise par un ensemble de symptômes cliniques tels que des céphalées, des nausées et des vomissements, de l'insomnie, de la fatigue générale, de la lassitude, des vertiges, des troubles de l'équilibre et de l'inappétence (Hackett et Roach 2001). Dans sa forme la plus grave, celui-ci peut aboutir dans certains cas à la formation d'un œdème pulmonaire ou cérébral (Hackett et Roach 2001).

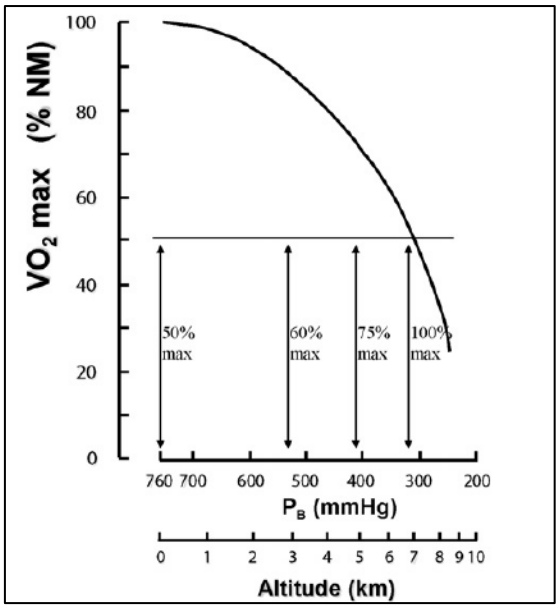


Figure 14 : Evolution de la consommation maximale d'oxygène ($\dot{V}O_{2max}$) en fonction de l'altitude et de la pression barométrique. Pour une même puissance absolue développée, l'intensité relative augmente avec l'altitude, e.g. un exercice effectué à 100 watts correspondant à 50% de la puissance maximale aérobie au niveau de la mer, correspond à une puissance relative de 100 % à 7000 mètres d'altitude (d'après Richalet, 2012).

I.4.2 La réponse ventilatoire à l'hypoxie : un facteur pronostic d'acclimatation à l'altitude

L'acclimatation ventilatoire est un facteur clé pour le maintien des performances en altitude et participe également à réduire la prévalence et/ou la sévérité des pathologies

d'altitudes (Fulco et coll. 2013; Girard et coll. 2013; Canoui-Poitrine et coll. 2014). En début d'ascension, celle-ci se manifeste par une hyperventilation réflexe quasi immédiate, ce qui augmente le débit ventilatoire ($\dot{V}_E$) tout en abaissant la pression partielle en gaz carbonique (hypocapnie). Cette réponse ventilatoire aiguë à l'hypoxie (HVR, *hypoxic ventilatory response*) constitue le premier mécanisme de défense venant s'opposer à la chute de la PaO_2 et de la SaO_2 dans le sang (**figure 15**) (Bisgard et Forster 2010). Après 3 à 5 minutes d'hyperventilation, le $\dot{V}_E$ tend à progressivement décroître pour finalement atteindre un nouveau plateau après 15 à 20 minutes d'exposition (HVD : *hypoxic ventilatory decline*, **figure 15**) (Steinback et Poulin 2007). Parfois interprétée comme le premier signe d'acclimatation ventilatoire à l'hypoxie, cette chute du $\dot{V}_E$ serait le fruit d'une désensibilisation des chémorécepteurs à l'hypoxie (Bascom et coll. 1990), dont l'intensité est proportionnelle à l'HVR (Teppema et Dahan 2010). Quand le temps passé en hypoxie se prolonge de plusieurs heures à plusieurs mois, une hausse lente et progressive du $\dot{V}_E$ est à nouveau observable. Cette acclimatation ventilatoire à l'hypoxie chronique provient d'une augmentation de la sensibilité du système respiratoire à l'hypoxie dont l'intensité est aussi fonction de l'HVR (Powell et coll. 1998).

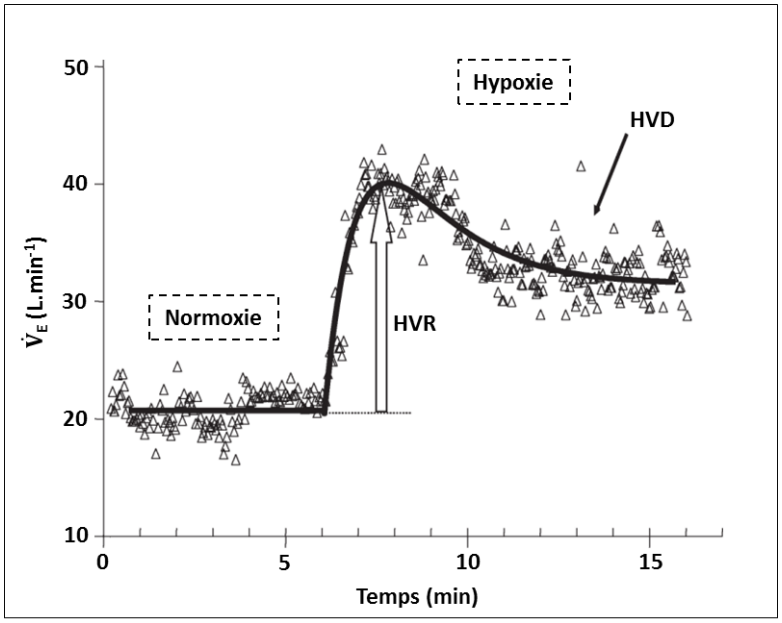


Figure 15 : Enregistrement du débit ventilatoire ($\dot{V}_E$, cycle à cycle) illustrant la réponse bi-phasique de la ventilation au cours de 15 minutes d'exposition à l'hypoxie chez l'adulte. La baisse du $\dot{V}_E$ (HVD) est fonction de l'intensité de la réponse ventilatoire à l'hypoxie (HVR) (d'après Duffin *et coll.* 2011).

L'HVR est étroitement liée à la chémosensibilité des corpuscules carotidiens, situés à la bifurcation des artères carotidiennes (**Figures 16 et 17**) (López-Barneo et coll. 2008). Il a en effet été montré que l'ablation bilatérale des corpuscules carotidiens entraînait de façon immédiate une hypoventilation et une acidose respiratoire (Olson et coll. 2001; Dahan et coll. 2007), même en cas d'hypoxie très sévère (Smith et coll. 1986). Une augmentation du nombre de cellules de type I des glomus carotidiens a par ailleurs été remarquée après une série d'épisodes hypoxiques, ce qui témoigne de la plasticité de ces entités sur l'HVR (Wang et coll. 2008).

Après une semaine d'exposition à l'hypoxie, Dwinell et Powell ont montré que la hausse de l'activité du nerf phrénique[2] provenait pour partie d'une augmentation de la sensibilité du système nerveux central à l'O_2 (Dwinell et Powell 1999) *via* l'activation de récepteurs synaptiques sensibles à l'hypoxie au niveau de la médulla ventro-latérale (e.g. les récepteurs à l'acide N-méthyl-D-aspartique) (Voituron et coll. 2014). D'autres études ont pu observer une hyperventilation induite par l'hypoxie chez l'animal bien qu'une perfusion normoxique normocapnique des corpuscules carotidiens soit maintenue (Dempsey et coll. 2014). Cette réponse apparaît rapidement (20 s - 25 s) et explique environ 20 % à 30 % de l'HVR « complète », i.e. issue de la stimulation des récepteurs centraux et périphériques. Ainsi, une plasticité d'origine centrale est également à considérer dans les processus de régulation de l'HVR et d'acclimatation ventilatoire à l'hypoxie chronique (Powell 2007).

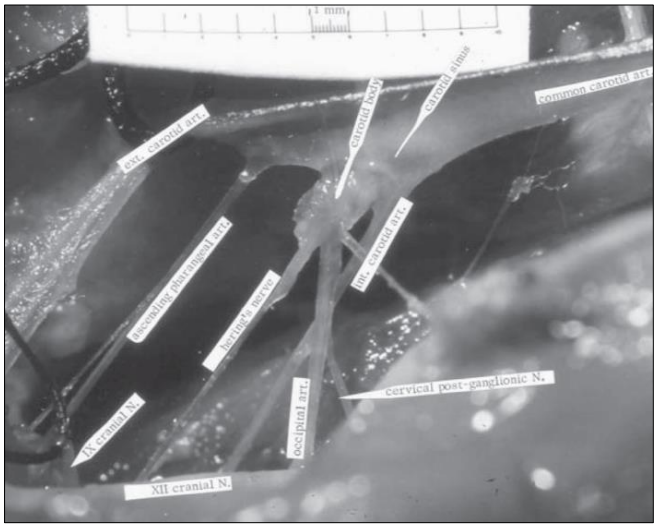


Figure 16 : Photo illustrant les chémorécepteurs périphériques (au centre de l'image) chez le chat. Situés au niveau des corpuscules carotidiens à la bifurcation des artères carotidiennes, les chémorécepteurs sont richement vascularisés (2000 mL.min^{-1} pour 100 g de tissu) et ne dépassent pas 2-7 mm de diamètre chez l'être humain (d'après Dempsey *et coll.* 2014).

[2] Nerf responsable de la contraction du diaphragme.

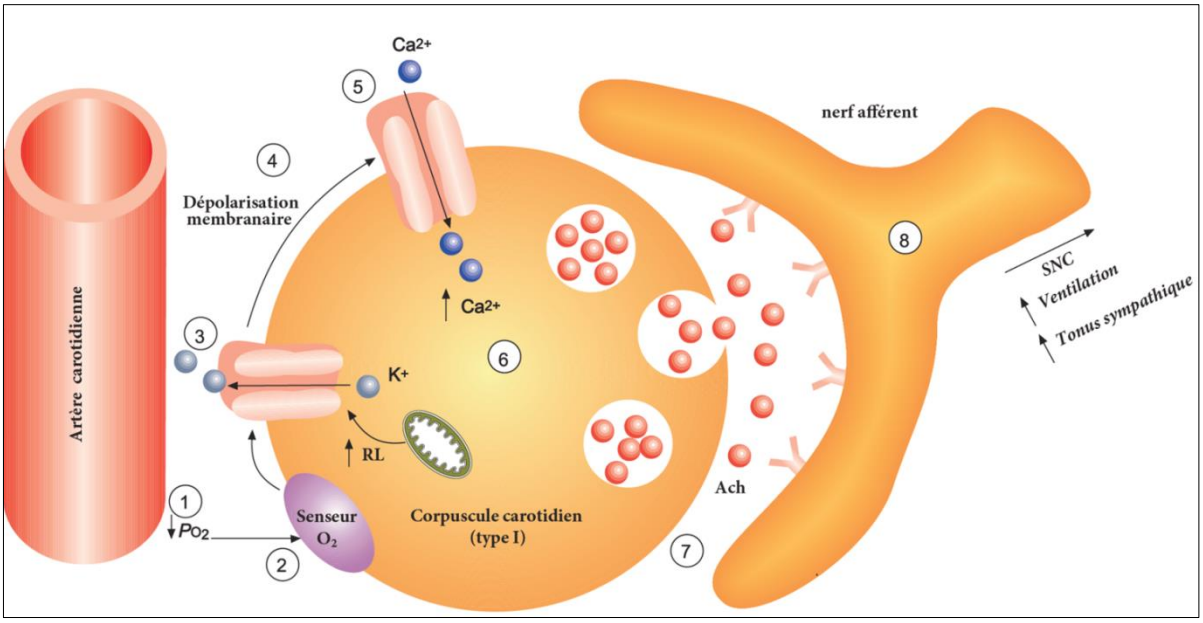


Figure 17 : Schéma résumant les principales étapes intervenant dans la stimulation des chémorécepteurs périphériques par l'hypoxémie : 1) Baisse de la pression partielle en oxygène (PO_2) 2) Détection de la chute de PO_2 par les capteurs (membranaires) sensibles à l'oxygène 3) Fermeture des canaux potassiques (K^+) voltage-dépendant 4) Dépolarisation membranaire 5) ouverture des canaux calciques voltage-dépendant 6) Augmentation de la concentration en ions calcium (Ca^{2+}) dans le cytosol 7) Libération de neurotransmetteurs [e.g. acetylcholine (Ach)] par les vésicules dans la fente synaptique 8) Excitation des fibres afférentes ordonnant au système nerveux central (SNC) l'augmentation de la ventilation et de l'activité sympathique (d'après Lopez-Barneo, 2008).

Il existe une différence homme vs. femme au niveau de l'HVR (White et coll. 1983) et celle-ci peut par ailleurs être influencée par des facteurs génétiques (Han et Strohl 2000), ce qui explique très probablement les différences inter-individuelles en terme d'HVR au sein de la population (Teppema et Dahan 2010).

Sachant que le degré d'hypoxémie joue un rôle majeur sur la sévérité des pathologies d'altitude (Hackett et Roach 2001), des équipes de recherche se sont interrogées sur la capacité de l'HVR à prédire leur apparition (Burtscher et coll. 2008; Nespoulet et coll. 2012; Richalet et coll. 2012; Wille et coll. 2012). En 2012, Nespoulet *et coll.* ont observé que l'HVR_r comptait parmi les facteurs prédictifs de l'intolérance à hypoxie (Nespoulet et coll. 2012). Les auteurs de l'étude ont trouvé que le risque de développer une pathologie d'altitude diminue de 80 % lorsque l'HVR_r isocapnique dépasse 0,58 $L.min^{-1}.\%^{-1}$ (Nespoulet et coll. 2012). La même année, Richalet *et coll.* sont parvenus à montrer que la désaturation en O_2 et l'HVR poïkilocapnique, notamment à l'effort (HVR_e), constituaient les principaux facteurs de risque (physiologiques) du développement d'une pathologie d'altitude (Richalet et coll. 2012). Incluant 1326 sujets, cette étude a révélé qu'une HVR_e inférieure à 0,78 $L.min^{-1}.kg^{-1}$

augmente significativement la probabilité d'occurrence d'une pathologie d'altitude (*odds ratio* = 6,76) (Richalet et coll. 2012). Par conséquent, l'intensité de l'HVR aurait un rôle prédictif majeur sur le processus d'acclimatation, la tolérance à l'hypoxie et les pathologies d'altitudes (Moore et coll. 1986; Nespoulet et coll. 2012; Richalet et coll. 2012). Ce risque serait d'autant plus élevé chez les personnes participant pour la première fois à une ascension en haute altitude (Richalet et Canoui-Poitrine 2014).

I.4.3 Réponse ventilatoire à l'hypoxie et protocoles hypoxiques

Dès le début des années 1990, l'équipe du professeur Richalet démontrait qu'une exposition préalable en chambre hypoxique hypobarique permettait d'améliorer l'acclimatation en prévision d'une ascension en très haute altitude (Richalet et coll. 1992a). Par la suite, des protocoles hypoxiques ont montré qu'une exposition préalable à l'hypoxie augmentait l'HVR au repos (HVR_r) (Garcia et coll. 2000; Lusina et coll. 2006; Katayama et coll. 2007; Katayama et coll. 2009) mais aussi l'HVR_e chez des sportifs de haut niveau ou peu entraînés (**tableau 1**) (Katayama et coll. 2001a; Brugniaux et coll. 2006). Grâce à la plasticité des chémorécepteurs, l'augmentation de l'HVR peut être maintenue pendant cinq jours (Foster et coll. 2005; Koehle et coll. 2007) jusqu'à deux semaines après l'interruption du stimulus hypoxique (Katayama et coll. 1998; Katayama et coll. 2001b; Katayama et coll. 2005b; Katayama et coll. 2009). Cependant, lorsque la dose hypoxique administrée est relativement faible (1 heure par jour pendant 7 jours, FiO_2 = 15,5%), la chémosensibilité à l'hypoxie n'apparaît pas affectée (Katayama et coll. 2007). L'intensité de l'HVR aurait ensuite tendance à naturellement décroître après une exposition à l'environnement hypoxique (Muza et coll. 2010).

En 2004, Beidleman *et coll.* ont montré qu'une exposition passive à l'hypoxie de 4 heures (4300 m), 5 jours par semaine pendant 3 semaines entraîne une atténuation de la désaturation en O_2 et une plus forte baisse de la $PetCO_2$ lors d'un test de tolérance à l'hypoxie (Beidleman et coll. 2004). Ces réponses, synonyme d'une hausse de l'HVR, s'accompagnaient d'une baisse des symptômes associés aux pathologies d'altitude (**tableau 1**). Wille *et coll.* sont aussi parvenus à montrer des résultats similaires avec un programme comprenant seulement 1 heure d'hypoxie pendant 7 jours consécutifs (Wille et coll. 2012). Cette dernière étude a par ailleurs révélée une corrélation négative entre l'augmentation de l'HVR_r et la baisse du score de Lake Louis[3] (r = -0,43 ; p < 0,05), confortant ainsi le potentiel de l'HVR à prédire une intolérance à l'hypoxie.

[3] Questionnaire servant à quantifier et diagnostiquer un mal aigu des montagnes.

Tableau 1 : Les effets de protocoles hypoxiques sur la réponse ventilatoire à l'hypoxie et ses répercussions sur les symptômes et/ou l'incidence d'une pathologie d'altitude

Auteurs	Population	Protocole hypoxique	Méthodologie (HVR)	Effets du protocole	
				HVR / SaO_2 / $PetCO_2$	pathologie d'altitude
Garcia et coll. (2000)	- 9 ♂ sains - Ø GC	- HN - FiO_2 = 13 % - 2 h./j. pendant 12 j.	- HVR (repos) : méthode isocapnique	- HVR (repos) : ↑ 193 % (jour 5)	
Katayama et coll. (2001)	- GH : 6 ♂ sains - Ø GC	- HH - 4500 m. - 1 h./j. pendant 7 j.	- HVR (repos) : méthode isocapnique de « Weil »	HVR (repos) : ↑ 49,1 % A 70% du $\dot{V}O_{2max}$: $\dot{V}_E$: ↑ 11,8 % SaO_2 : ↑ 12,7 %	
Beidleman et coll. (2004)	- GH : 5 ♂ et 1 ♀ sains - Ø GC	- HH - 4300 m. - 4 h./j., 5j./sem. pendant 3 sem.		- SaO_2 : ↑ 6,25 % - $PetCO_2$: ↓ 11 %	- Score de Lake Louis : ↓ 86,4 % à 4300 mètres - Incidence d'une pathologie d'altitude : ↓ 100 % à 4300 mètres
Brugniaux et coll. (2006)	- GH : 21 athlètes (niveau national à international) - GC : 11 athlètes (niveau national à international)	- HN - FiO_2 = 15,4 à 17,4 % - LHTL : 11 à 16 h/j d'hypoxie (passif) pendant 13 à 18 j. + entraînement aérobie (75%) / anaérobie (25%) en normoxie	- HVR (effort) : Test poïkilocapnique de « Richalet »	HVR (effort) : ↑ 74 %	Score de Lake Louis : ↔
Lusina et coll. (2006)	- GH : 11 ♂ sains - Ø GC	- HN - $\overline{SaO_2}$= 80 % - 1 h./j. pendant 10j.	- HVR : méthode isocapnique	HVR (repos) : ↑ 103,3 %	

GH, groupe hypoxie ; GC, groupe contrôle ; HH, hypoxie hypobarique ; HN, hypoxie normobarique ; HVR, réponse ventilatoire à l'hypoxie, SaO_2, $PetCO_2$, pression partielle de fin d'expiration en CO_2 ; saturation artérielle en O_2, $\dot{V}O_{2max}$, consommation maximale d'O_2.

Tableau 1 : (suite)

Auteurs	Population	Protocole hypoxique	Méthodologie (HVR)	Effets du protocole	
				HVR / SaO_2 / $PetCO_2$	pathologie d'altitude
Katayama et coll. (2007)	- GH : 12 ♂coureurs - GC : 6 ♂ coureurs	- HN 2 modalités : [1] : 1 h./j. pendant 7 j. (FiO_2 = 12,3 %) [2] : 1 h./j. pendant 7 j. (FiO_2 = 15,5 %)	- HVR (repos) : méthode isocapnique de « Weil »	HVR (repos) : - [1] : ↑ 42,5 % - [2] : ↔	
Katayama et coll. (2009)	- GH : 12 ♂ sains - GC : 7 ♂ sains	- HN - FiO_2 = 12,3 % 2 modalités : - [1] : 1 h./j. pendant 7 j. - [2] : 3 h/j. pendant 7 j.	- HVR (repos) : méthode isocapnique de « Weil »	- HVR (repos) : [1] : ↑ 78,8 % [2] : ↑ 56,8 % - Après une sem. : [1] : ↑ 51,5 % [2] : ↑ 27,0 %	
Schommer et coll. (2010)	- GH : 11 ♂ et 9 ♀ sains - GC : 11 ♂ et 9 ♀ sains	- HN - FiO_2 = 0,16 %; 0,15 %; 0,14 % - GH : 1 h. d'hypoxie /j. à ~60 % du VO_{2max}, 3 j./sem. pendant 3 sem. - GC : Idem en normoxie (FiO_2 = 21 %)		- $PaCo_2$: ↔ - SaO_2 : ↔	- Incidence d'une pathologie d'altitude : - ↓ 76,5 % à 3611 mètres - ↔ à 4559 mètres
Wille et coll. (2012)	- GH : 26 ♂ sains - *Sham*	- HN - GH : FiO_2 = 12,6 % - *Sham* : FiO_2 = 20,9 % - 1 h./j. pendant 7 j.	- HVR : méthode isocapnique de « Weil »	HVR (repos) : ↑ 50,7 %	-Score de Lake Louis : ↓ 31,7 % à 5300 mètres
				$\overline{HVR}$ = + 81 %	

GH, groupe hypoxie ; GC, groupe contrôle ; HH, hypoxie hypobarique ; HN, hypoxie normobarique ; HVR, réponse ventilatoire à l'hypoxie, SaO_2, saturation artérielle en O_2, $PaCO_2$, pression partielle artérielle en CO_2 ; $\dot{V}O_{2max}$, consommation maximale d'O_2. $\overline{HVR}$, hausse moyenne de l'HVR calculée à partir des deux tableaux.

I.4.4 Réponses ventilatoires à l'hypoxie et à l'hypercapnie chez les apnéistes

L'entraînement à l'apnée se caractérise par la répétition d'épisodes hypoxémiques intermittents (**figure 18**). En effet, la pression partielle en oxygène (PaO_2) peut atteindre chez des apnéistes entraînés des valeurs comprises entre 20 et 55 mmHg à la fin de l'apnée (Ferretti 2001; Lindholm et Lundgren 2006; Overgaard et coll. 2006; Breskovic et coll. 2012). Contrairement à l'hypoxie d'altitude, l'hypoxémie s'accompagne ici d'une hypercapnie avec des pressions partielles artérielles en gaz carbonique ($PaCO_2$) de fin d'apnée comprises entre 50 et 65 mmHg (Ferretti 2001; Overgaard et coll. 2006). De ce constat, il a depuis longtemps été considéré que les expositions extrêmes à l'hypoxémie hypercapnique auxquelles sont fréquemment confrontés les apnéistes parviendraient à modifier la sensibilité à l'hypoxie et à l'hypercapnie des chémorécepteurs (Song et coll. 1963; Schaefer 1965; Ferretti et coll. 1991).

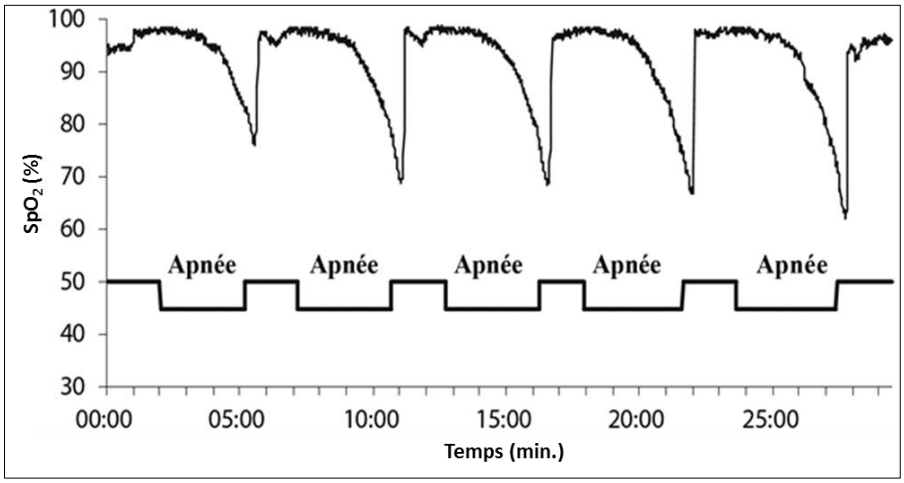


Figure 18 : Evolution de la saturation périphérique en oxygène (SpO_2) lors d'un entraînement type comprenant la répétition de 5 apnées (statique), chacune d'entre elles étant séparée par 2 minutes de récupération (d'après De Bruijn *et coll.* 2008).

Certaines études ont démontré une atténuation de la réponse ventilatoire à l'hypercapnie (HCVR) chez les apnéistes (Grassi et coll. 1994; Delapille et coll. 2001; Ivancev et coll. 2007), alors que d'autres travaux n'ont pas révélé de différence entre les apnéistes et le groupe contrôle (Masuda et coll. 1981; Dujic et coll. 2008). Dans des activités sportives nécessitant une répétition d'apnées, une baisse de l'HCVR a été remarquée chez les hockeyeurs subaquatiques (Davis et coll. 1987), alors que l'HCVR de nageuses pratiquant la natation synchronisée était semblable au groupe contrôle (Bjurstrom et Schoene 1987). Ces contradictions reposent pour partie sur les méthodologies employées pour estimer la chémosensibilité des récepteurs à l'hypercapnie (maintien constant de la PCO_2 vs. test

dynamique de réinspiration au CO_2) et/ou d'une différence de niveau de pratique parmi les apnéistes étudiés (Foster et Sheel 2005). Malgré ces résultats contradictoires, l'hypothèse d'un décalage du seuil vers la droite et d'une baisse de la sensibilité ventilatoire à l'hypercapnie semble être retenue (**figure 19**). Ainsi, l'entraînement à l'apnée retarderait la reprise réflexe de la respiration *via* la désensibilisation progressive des chémorécepteurs à l'hypercapnie, ce qui expliquerait les temps d'apnées de plusieurs minutes observés chez les apnéistes (Ferretti et Costa 2003).

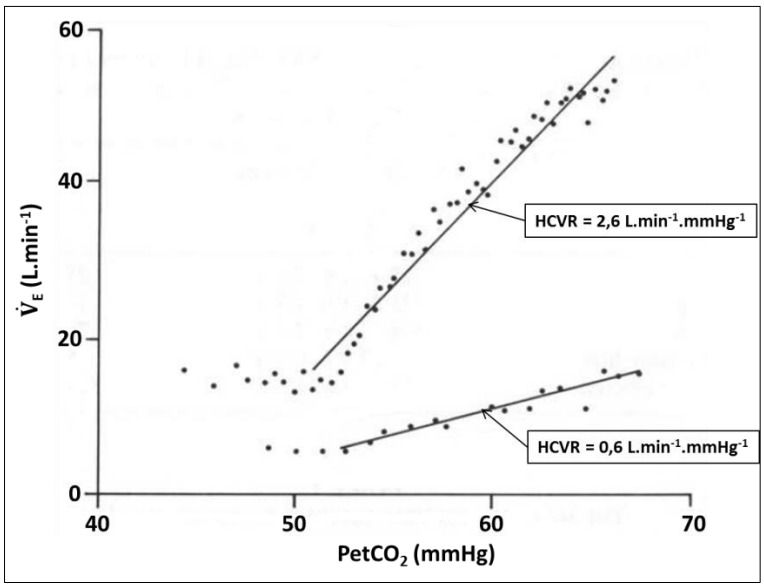


Figure 19 : Représentation graphique des réponses ventilatoires à l'hypercapnie (HCVR) entre un non-apnéiste (tracé en haut) et un hockeyeur subaquatique (tracé en bas) lors du test de réinspiration au CO_2 de « Read » (d'après Davis et coll. 1987).

Les travaux qui se sont intéressés à la chémosensibilité à l'hypoxie des apnéistes à travers l'analyse de l'HVR ont, tout comme l'HCVR, montré des résultats contradictoires (**tableau 2**). Chez les apnéistes, l'HVR au repos peut se révéler atténuée (Masuda et coll. 1982), alors que d'autres études ont montré une intensité de l'HVR chez les apnéistes comparable au groupe contrôle (Grassi et coll. 1994; Breskovic et coll. 2010a; Breskovic et coll. 2010b). À l'effort, Grassi *et coll.* n'ont pas révélé de différence entre les apnéistes et le groupe témoin (Grassi et coll. 1994). Le peu de sujets impliqués dans cette étude (3 apnéistes, 1 H, 2 F) et une influence très probable de facteurs génétiques (père et ses deux filles) limitent néanmoins grandement l'interprétation des résultats (Grassi et coll. 1994).

Tableau 2 : Réponses ventilatoires à l'hypoxie et à l'hypercapnie chez les apnéistes et les pratiquants d'activités subaquatiques.

Réponses ventilatoires à l'hypoxie (HVR) et à l'hypercapnie (HCVR)					
Auteurs	**Population**	**Niveau de pratique**	**Méthodologie**	**HCVR**	**HVR**
Apnéistes					
Masuda et coll. (1981)	- 5 ♀ apnéistes (Amas) - 5 ♀ non-apnéistes	- Non précisé	- Modèle « d'Oxford[4] »	- HCVR: ↔	- HVR (repos) : ↓
Masuda et coll. (1982)	- 7 ♂ apnéistes (Amas) - 7 ♂ non-apnéistes	- 15,7 ± 5,1 années d'entraînement	- Modèle « d'Oxford »	- HCVR :↓ 45,2 %	- HVR (repos) : ↔
Grassi et coll. (1994)	- 2 ♀ et 1 ♂ apnéistes - 3 ♀ et 6 ♂ témoins	- Niveau international	- HCVR : $FiCO_2$ constante (1,5%; 3%; 5%) - HVR (repos) : PiO_2 = 77 mmHg - HVR (à l'effort) : PiO_2 = 77 mmHg; intensité = 60 W.	- HCVR : ↓ 18,6 % ($FiCO_2$ = 1,5 %) - HCVR : ↓ 27,9 % ($FiCO_2$ = 3 %) - HCVR : ↓ 32,6 % ($FiCO_2$ = 5 %)	- HVR (repos) : ↔ - HVR (à l'effort) : ↔
Delapille et coll. (2001)	- 8 ♂ apnéistes - 8 ♂ non-apnéistes	- 9 ± 5 années d'entraînement - 3 à 7 h. entraînement/sem.	- HCVR : test de « Read »	- HCVR (assis) :↓ 38,5 % vs non-apnéistes - HCVR (assis en immersion) : ↓ 42,7 % - HCVR (allongé en immersion) : ↓ 43,4 %	
Ivancev et coll. (2007)	- 7 ♂ apnéistes - 7 ♂ non-apnéistes	- 7 ± 4 années d'entraînement	- HCVR : test de « Read »	- HCVR : ↓ 30,9 % vs non-apnéistes ($PetCO_2$ = 60 mmHg)	

FiO_2, fraction d'oxygène inspirée ; PiO_2, pression partielle d'oxygène inspirée ; $FiCO_2$, fraction inspiratoire en dioxyde de carbone ; $PetCO_2$, pression partielle de fin d'expiration en CO_2 SaO_2, saturation artérielle en oxygène.

[4] Inventée par Lloyd et Cunningham (1963), l'approche « d'Oxford » permet d'estimer la sensibilité au gaz carbonique (mais aussi à l'hypoxie) d'un individu à partir d'une exposition de plusieurs minutes (5 à 20 minutes) à des $FiCO_2$ et FiO_2 maintenues constantes tout au long du test. Cette approche est de nos jours critiquée car la sensibilité au gaz carbonique est déterminée à partir d'un nombre insuffisant de points expérimentaux (e.g. 2).

Tableau 1 : (suite)

Réponses ventilatoires à l'hypoxie (HVR) et à l'hypercapnie (HCVR)					
Auteurs	**Population**	**Niveau de pratique**	**Méthodologie**	**HCVR**	**HVR**
Apnéistes					
Dujic et coll. (2008)	-11 ♂ apnéistes - 9 non-apnéistes	- 4-5 entraînements/sem.	- HCVR : test de « Read »	- HCVR: ↔	
Breskovic et coll. (2010)	- 3 ♀ et 8 ♂ apnéistes - 2 ♀ et 9 ♂ non-apnéistes	- 1 entraînement/sem.	- HVR (repos) : SaO_2 = 90 %; SaO_2 = 80 %		- HVR (repos): ↔
Breskovic et coll. (2010)	- 3 ♀ et 10 ♂ apnéistes - 2 ♀ et 9 ♂ non-apnéistes	- 1-1,5 h. d'entraînement, 3x/sem.	- HVR (repos) : SaO_2 = 90 %; SaO_2 = 80 %		- HVR (repos): ↔
Activités subaquatiques					
Davis et coll. (1987)	- 34 ♂ hockeyeurs subaquatiques - 28 ♂ témoins	- Au moins niveau régional	- HCVR : test de « Read »	- HCVR : ↓ 35,7 %	
Bjurstrom et Schoene (1987)	- 10 ♀ nageuses (natation synchronisée) - 10 ♀ témoins	- Niveau international	- HCVR : test de « Read » - HVR (repos) : 8-12 min (FiO_2 = 5%)	- HCVR: ↔	- HVR (repos) : ↓ 55,8 %

FiO_2, fraction d'oxygène inspirée ; PiO_2, pression partielle inspiratoire en oxygène ; $FiCO_2$, fraction de dioxyde de carbone inspirée ; SaO_2, saturation artérielle en oxygène.

Pourtant, une hausse de l'HVR a également été envisagée. Ainsi, l'équipe de Feiner *et coll.* a mis en avant une corrélation positive entre la SpO_{2min} au cours d'une apnée et l'HVR, sans montrer de corrélation avec l'HCVR (Feiner et coll. 1995). Autrement dit, plus l'HVR au repos d'un individu donné sera importante et plus la SpO_{2min} en fin d'apnée sera élevée (**figure 20**) (Feiner et coll. 1995). Par opposition aux précédentes études que nous avons citées, l'HVR serait ici considérée comme un facteur explicatif dans l'allongement de la durée de l'apnée, et non la HCVR.

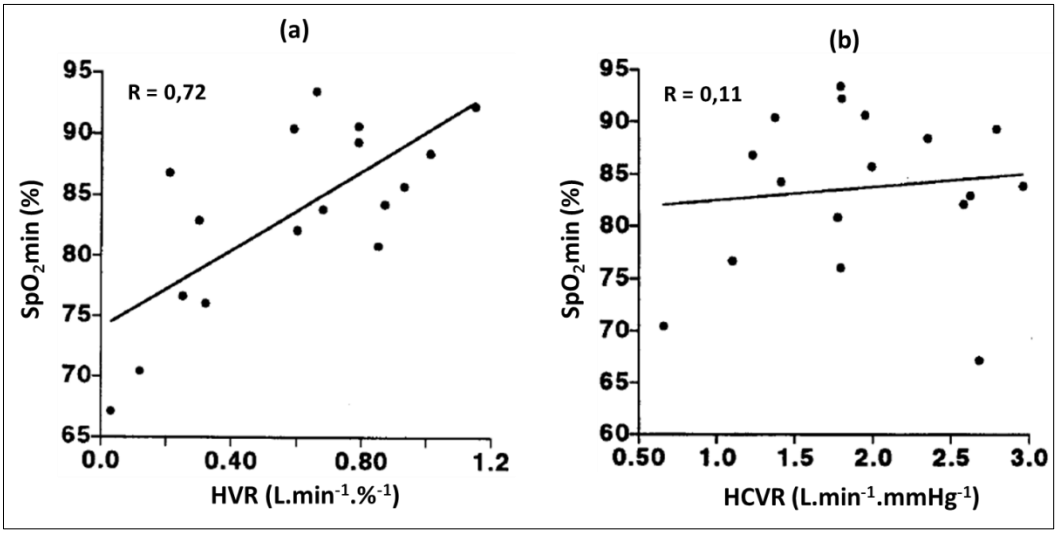


Figure 20 : Corrélations entre la réponse ventilatoire à l'hypoxie (HVR, figure 20a), la réponse ventilatoire à l'hypercapnie (HCVR, figure 20b) avec la SpO_{2min} atteinte en fin d'apnée (d'après Feiner *et coll.* 1995).

Par ailleurs, plusieurs études ont proposé l'apnée comme un modèle (sain) capable de simuler les épisodes hypoxémiques hypercapniques que nous pouvons, par exemple, rencontrer chez les sujets souffrant d'apnées obstructives du sommeil (Monahan et coll. 2006; Steinback et coll. 2010a). D'un point de vue ventilatoire, il est intéressant de souligner que les individus assujettis à des pathologies obstructives pendant leur sommeil possèdent une HVR plus élevée qu'une population témoin (Prabhakar et coll. 2012; Mateika et Syed 2013; Dempsey et Smith 2014). Ces résultats démontrent que de courtes hypoxémies seraient en mesure d'augmenter l'HVR.

Enfin, il a été estimé qu'un entraînement à l'apnée de 60 à 90 minutes, 3 à 5 fois par semaine, représentait jusqu'à 30 à 40 cycles d'hypoxémie intermittente par semaine (Heusser et coll. 2009; Breskovic et coll. 2010a; Steinback et coll. 2010a). Ce type d'entraînement possède d'étroites similitudes avec certaines formes de protocole utilisant un appareil tiers (e.g. *hypoxicator*) pour générer des cycles d'hypoxie intermittente. Ces protocoles, qui

alternent 2 à 7 minutes d'hypoxie entrecoupées de 2 à 7 minutes de normoxie, 1 à 6 heures par jour pendant 4 à 14 jours, ont toujours été associés à une hausse de l'HVR_r chez des personnes en bonne santé (**tableau 3**) (Serebrovskaya et coll. 1999; Bernardi et coll. 2001; Foster et coll. 2005; Koehle et coll. 2007; Koehle et coll. 2008; Brugniaux et coll. 2011).

Les résultats de ces différentes études laissent à penser que les apnéistes possèderaient, de par leur entraînement comprenant des hypoxémies répétées, une hyper-sensibilité des chémorécepteurs à l'hypoxie se traduisant par une HVR élevée (**étude 3**). Si l'hypothèse est confirmée, l'entraînement en apnée pourrait alors être envisagé comme une stratégie peu couteuse de pré-acclimatation à l'altitude naturelle.

Tableau 3 : Effets de l'hypoxie intermittente sur les réponses ventilatoires à l'hypoxie et à l'hypercapnie chez des sujets sains.

Réponses ventilatoires à l'hypoxie (HVR) et à l'hypercapnie (HCVR)					
Auteurs	**Population**	**Protocole hypoxie intermittente**	**Méthodologie**	**HCVR**	**HVR**
Serebrovskaya et coll. (1999)	- 18 ♂ sains	- FiO_2 = 7-8 % (isocapnique) - 3 cycles de 5-6 min. HX / 5 min. NX pendant 14 j.	- HVR : méthode isocapnique de « Weil » modifiée		- HVR (repos) : ↑ 96,3 %
Bernardi et coll. (2001)	- GH : 18 ♂ sains - GN : 6 ♂ sains	- $PetO_2$ = 35-40 mmHg (isocapnique) - 5-7 min. HX / 5-7 min. NX - 1 h./j. pendant 2 semaines	- HVR : méthode isocapnique de « Weil » modifiée		- HVR (repos) : ↑ 21,8 %
Foster et coll. (2005)	- 18 ♂ sains	- FiO_2 = 12 % (isocapnique) - 5 min. HX / 5 min. NX - 1h./j. pendant 12 j.	- HVR : méthode isocapnique de « Weil » - HCVR: test de « Read »	- HCVR : ↔	- HVR (repos) : ↑ 56,3 %
Koehle et coll. (2007)	- 10 ♂ sains	- FiO_2 = 12 % (poïkilocapnique) - 5 min. HX / 5 min. NX - 115 min./j. pendant 7 j.	- HVR : méthode isocapnique - HCVR : test de « Duffin »	- HCVR (seuil) : ↓ vs pré-exposition - HCVR (sensibilité) : ↑ vs pré-exposition	- HVR (repos) : ↑ 49 %
Brugniaux et coll. (2011)	- 9 ♂ sains	- $PetO_2$ = 45 mmHg (poïkilocapnique) - 2 min. HX / 2 min. NX - 6 h./j. pendant 4 j.	- HVR : méthode isocapnique		- HVR (repos) : ↑ 76,7 %
					$\overline{HVR}$ = + 60,0 %

FiO_2, fraction d'oxygène inspirée ; $PetO_2$, pression partielle en oxygène de fin d'expiration, GH, groupe hypoxie ; GN, groupe normoxie ; HX, hypoxie ; NX, normoxie, $\overline{HVR}$, hausse moyenne de l'HVR calculée à partir des 5 études.

I.5 Hypoxie et syncope

I.5.1 Généralités sur la syncope

Dérivée du terme grec *sugkoptein*, briser, la syncope correspond à une perte de connaissance brève (PCB), dont la cause est généralement attribuée à une hypo-perfusion cérébrale globale et transitoire (Moya et coll. 2009). La perte de connaissance est brutale, spontanément résolutive avec un retour rapide à un état de conscience normal (Moya et coll. 2009). Elle s'accompagne toujours d'une perte du tonus postural pouvant être à l'origine d'une noyade, d'une chute et/ou d'un traumatisme. La classification des syncopes repose sur les concepts physiopathologiques à l'origine de la survenue des syncopes. Ces dernières sont ainsi classées en trois catégories : la syncope réflexe (ou neurocardiogénique), la syncope liée à une hypotension orthostatique et la syncope d'origine cardiaque. Les syncopes neurocardiogéniques sont les plus souvent observées car elles représentent 1 à 5 % des hospitalisations et environ 50 % des syncopes, toutes formes confondues (Goldschlager et coll. 2003; Brignole 2005).

I.5.2 Syncope, hypoxie et environnement extrême : l'exemple de l'apnée

En 2007, Peter Lindholm rapportait qu'environ 10% des performances en apnée réalisées lors des plus grandes compétitions internationales (1998 à 2004) avaient été suivies d'une syncope ou d'une perte de contrôle moteur[5] (Lindholm 2007). Le principal facteur de risque de survenue d'une syncope est la manœuvre d'hyperventilation pendant la phase préparatoire de l'apnée (Craig 1976). Pratiquée par les apnéistes depuis de nombreuses années, l'accélération volontaire de la fréquence et la hausse de l'amplitude respiratoire provoquent, avant le début de l'apnée, une baisse significative de la $PaCO_2$ sans modification de la PaO_2. L'hyperventilation permet ainsi aux apnéistes de commencer une apnée en hypocapnie, ce qui retarde la stimulation des chémorécepteurs au CO_2 et prolonge leur temps d'apnée, au risque d'aboutir à une syncope (Albert et Craig 1961). En effet, ce type de manœuvre ventilatoire en amont de l'apnée permet d'atteindre des pressions partielles de fin d'expiration en O_2 ($PetO_2$) proches de 20 mmHg au terme de l'apnée (Lindholm et Lundgren 2006; Overgaard et coll. 2006; Andersson et coll. 2009). Cette valeur correspondrait au seuil hypoxique « critique » de la perte de connaissance brève (PCB) (Gradwell 2006). Dans une étude de cas, Linér *et coll.*

[5] État pouvant précéder la syncope. La symptomatologie se résume à une série de convulsions incontrôlables du corps, sans perte de connaissance.

ont retrouvé chez un apnéiste ayant subi un épisode syncopal, une augmentation de la protéine S100B, un biomarqueur utilisé pour détecter d'éventuels dommages cérébraux liés à l'hypoxie (Linér et Andersson 2009). Ces observations tendent donc à montrer que la syncope apnéique serait principalement liée à l'hypoxémie extrême de fin d'apnée (Linér et Andersson 2009), mais cette hypothèse physiopathologique reste encore à confirmer.

I.5.3 Physiopathologie de la syncope en apnée : un rôle joué par l'adénosine ?

I.5.3.1 *L'adénosine*

L'adénosine, formée par l'association d'un groupement adénine et d'un noyau ribose (**figure 21**), est un nucléoside[6] ubiquitaire intervenant dans de nombreux processus biochimiques de l'organisme (Ralevic et Burnstock 1998).

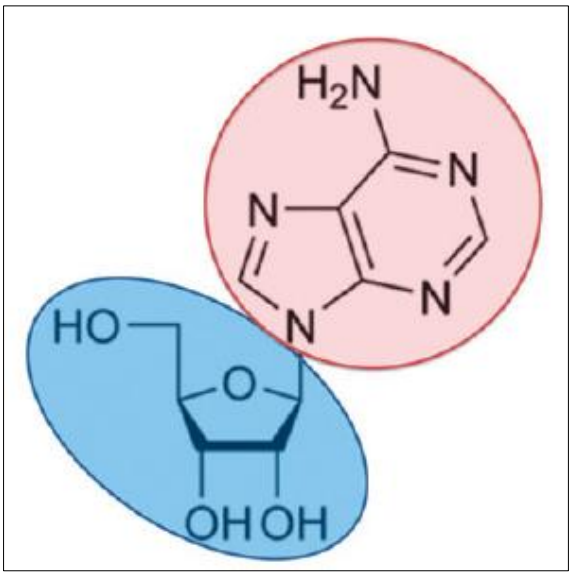


Figure 21 : Représentation de Cram de l'adénosine composée d'un noyau ribose (en rouge) et d'un groupement adénine (en bleu) (d'après Grenz *et coll.* 2011).

Ce dérivé purique, connu pour son rôle sur le métabolisme énergétique, joue également un rôle clé sur la régulation du système cardio-vasculaire (Sollevi 1986; Freilich et Tepper 1992). Ses effets dépendent principalement des 4 récepteurs couplés aux protéines G sur lesquels l'adénosine vient se fixer (classés selon leur séquence primaire et leur propriété pharmacologique : A_1 R, A_{2A} R, A_{2B} R et A_3 R) (Fredholm et coll. 2011). Les récepteurs A_1 et A_{2A} sont les récepteurs ayant la plus grande affinité avec l'adénosine (Layland et coll. 2014). Au niveau cardio-vasculaire, l'activation des récepteurs A_1 aura une action chronotrope

[6]Dans les cellules, les nucléosides sont phosphorylés par des kinases spécifiques pour former des nucléotides, éléments constitutifs des acides nucléiques (ADN et ARN). La principale différence avec les nucléotides est donc l'absence de groupement phosphate.

négative alors que l'activation des récepteurs A_{2A} et A_{2B} entraîneront globalement une vasodilatation de la microcirculation (Ø < 150 µm) *via* un relâchement des muscles lisses des parois vasculaires (Layland et coll. 2014). Les récepteurs A_3 ont quant à eux été découverts plus récemment et ces derniers auraient un rôle important au niveau de la protection myocardique (Headrick et coll. 2013).

I.5.3.2 *Régulation*

La production d'adénosine dépend de l'état des cellules. En situation d'homéostasie, l'hydrolyse de la S-adénosylhomocystéine (SAH) produit approximativement 30 % de l'adénosine (Broch et Ueland 1980), le reste étant obtenu par la déphosphorylation d'adénosine monophosphate (AMP) (Schubert et coll. 1979). Des transporteurs bi-directionnels spécifiques assurent l'équilibre des concentrations en adénosine entre le milieu intra et extra-cellulaire (King et coll. 2006). Dans ces circonstances, la concentration extra-cellulaire en adénosine est sous contrôle enzymatique et reste faible (de l'ordre de 30 à 200 $nmol.L^{-1}$, **figure 22**). En cas de stress cellulaire, la synthèse d'adénosine provient de la dégradation de l'ATP et sa concentration extra-cellulaire augmente, pouvant atteindre près de 100 fois les concentrations normales (Fredholm et coll. 2001). Elle est ensuite dégradée en inosine par l'adénosine dé(s)aminase (Lloyd et Fredholm 1995) ou phosphorylée en AMP par l'adénosine kinase (Spychala et coll. 1996). Dans le cœur et probablement d'autres tissus, l'hypoxie inhibe l'adénosine dé(s)aminase, ce qui favorise la formation d'adénosine à partir d'AMP et augmente *in fine* la concentration plasmatique en adénosine (CPA, **figure 22**) (Decking et coll. 1997; Grenz et coll. 2011). L'adénosine kinase étant peu représentée dans le milieu extra-cellulaire, la (re)-phosphorylation de l'adénosine en AMP ou ATP peut être considérée comme négligeable (Lloyd et Fredholm 1995). Ainsi, il existe une augmentation des CPA en cas d'hypoxie (ou d'ischémie). L'adénosine est donc considérée comme un biomarqueur très sensible de cet état potentiellement physiopathologique (Sollevi 1986).

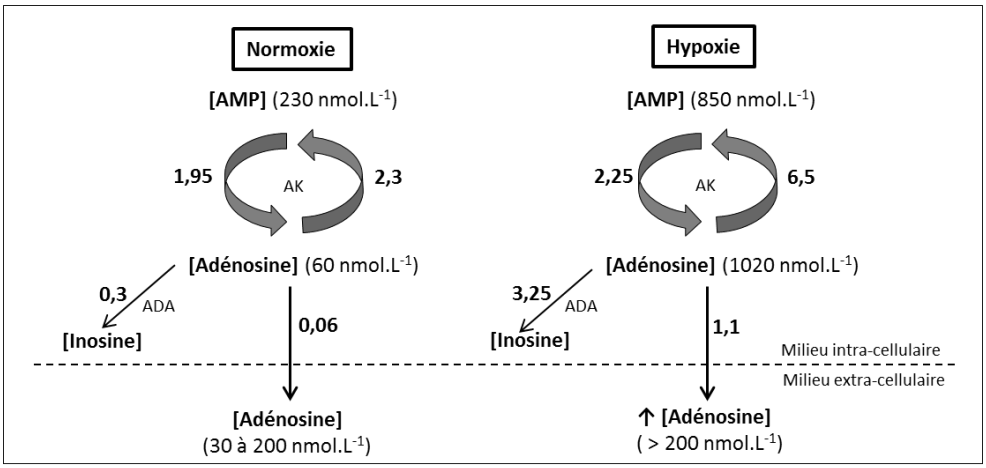


Figure 22 : Effets de l'hypoxie sur les concentrations et les flux (en nmol.min^{-1}.g^{-1}) d'adénosine entre le milieu intra et extra-cellulaire du tissu cardiaque. Les valeurs sont tirées des données expérimentales de Decking et *coll.* AMP, adénosine monophosphate ; AK, adénosine kinase ; ADA, adénosine dé(s)aminase (d'après Decking *et coll.* 1997).

Nous avons vu que la physiopathologie de la syncope en apnée était peut être liée au degré d'hypoxémie (Linér et Andersson 2009). Ainsi, une étude évaluant les CPA avant, pendant et après l'apnée chez des apnéistes « syncopeurs » et des apnéistes « non-syncopeurs » pourrait permettre de mieux comprendre les effets de l'hypoxémie sur les mécanismes physiopathologiques intervenant dans la syncope (**étude 4**). Si l'hypothèse d'une hausse plus élevée de la CPA chez des apnéistes « syncopeurs » par rapport à des apnéistes non-syncopeurs » venait à se confirmer, ceci pourrait également aider à détecter les sujets plus à risque de développer une PCB en fin d'apnée.

I.6 Hypoxie et troubles métaboliques

I.6.1 L'émergence d'une nouvelle « théorie hypoxique »

I.6.1.1 *Rôle du tissu adipeux blanc*

Ces vingt dernières années, la vision du rôle et des fonctions physiologiques des cellules contenues dans le tissu adipeux blanc a radicalement évolué. Ce tissu était initialement perçu comme un simple lieu de stockage énergétique sous forme de triglycérides ; il est désormais décrit comme un organe possédant une véritable fonction endocrinienne, car il constitue un lieu de sécrétion de plusieurs centaines de cytokines (ou adipokines) (Dennedy et Vidal-Puig 2014). En cas d'obésité, l'accroissement du tissu adipeux entraîne des niveaux anormalement élevés d'adipokines à l'origine d'un état chronique d'inflammation à bas bruit. Ce phénomène

est responsable d'un développement progressif de la résistance des cellules à l'insuline et d'un dysfonctionnement de la fonction endothéliale qui sont à l'origine des pathologies associées à l'obésité telles que le diabète sucré de type 2, les maladies cardiovasculaires ou certains types de cancers (Emanuela et coll. 2012).

I.6.1.2 *Hypoxie du tissu adipeux*

En 2004, l'hypothèse d'un rôle central joué par une baisse (relative) de l'oxygénation des cellules adipocytaires comme facteur explicatif de la sécrétion d'adipokines était pour la première fois mise en lumière (Trayhurn et Wood 2004). Cette « théorie hypoxique », dont le but est d'expliquer *in fine* les causes du développement pérenne de l'insulino-résistance chez des personnes atteintes de troubles métaboliques, s'appuie sur la concordance de plusieurs observations au sein de la littérature :

- L'expansion progressive de la masse grasse ne s'accompagne pas d'une hausse du débit cardiaque ni du débit sanguin systémique (Jansson et coll. 1992; Blaak et coll. 1995).
- Le débit sanguin systémique en direction du tissu adipeux augmente en période postprandiale chez le sujet normo-pondéré (IMC<25 $kg.m^{-2}$), tandis que cette réaction compensatrice (aiguë) est absente chez l'obèse (Karpe et coll. 2002).
- L'hypertrophie adipocytaire, qui se traduit par une taille des adipocytes avoisinant 150 à 200 µm de diamètre (Skurk et coll. 2007), est supérieure à la distance de diffusion de l'O_2 généralement comprise entre 100 et 120 µm (Helmlinger et coll. 1997) ; ce phénomène limiterait, par conséquent, significativement les échanges gazeux entre le sang et le cytoplasme de la cellule adipeuse.

Il aura toutefois fallu attendre trois ans avant d'objectiver de manière directe une baisse (relative) de l'oxygénation des adipocytes, tout d'abord chez la souris obèse (Hosogai et coll. 2007; Ye et coll. 2007), puis chez l'être humain (Pasarica et coll. 2009), grâce aux avancées technologiques et la possibilité de nos jours d'estimer la PO_2 *in vivo* du tissu adipeux. À PO_2 artérielle et musculaire équivalente, des PO_2 interstitielles du tissu adipeux 2 à 3,5 plus faibles chez les souris obèses ont été rapportées en comparaison de souris normo-pondérées (Ye et coll. 2007; Rausch et coll. 2008; Sun et coll. 2013). Chez l'être humain, la PO_2 du tissu adipeux sous-cutané s'est révélée plus basse entre une population atteinte d'obésité sévère (IMC > 40 $kg.m^{-2}$) comparativement à des sujets normo-pondérées (Kabon et coll. 2004; Fleischmann et coll. 2005; Pasarica et coll. 2009). De plus, il apparaît qu'une corrélation

négative existerait entre le pourcentage de masse grasse et la PO_2 adipocytaire (r = -0,50 ; p < 0,05) (Pasarica et coll. 2009). Des observations comparables au modèle animal semblent aussi se dégager chez l'être humain, bien que les différences de PO_2 entre populations obèses et non obèses semblent sensiblement moins importantes que chez le rongeur (Trayhurn 2013). À la lumière de ces travaux, l'hypothèse d'un développement de zones hypoxiques chroniques au sein du tissu adipeux à mesure que celui-ci s'accroît semble peu à peu se dessiner. Cette hypothèse hypoxique (Kayser et Verges 2013) suscite l'intérêt de la communauté scientifique, car celle-ci permettrait de mieux comprendre la physiopathologie de l'obésité ainsi que ses comorbidités associées (Ye 2009; Trayhurn 2013; Palmer et Clegg 2014b; Trayhurn 2014).

I.6.2 La « théorie hypoxique » appliquée aux cellules adipocytaires

I.6.2.1 *Adipokines*

Le nombre de plus en plus important de preuves (directes et indirectes) que le tissu adipeux serait davantage hypoxique chez le sujet obèse par rapport à l'individu normo-pondéré ont été à l'origine de travaux examinant les effets d'une faible concentration en oxygène sur la sécrétion de cytokines et le métabolisme des cellules adipocytaires. Les principales cytokines pro et anti-inflammatoires sécrétées par le tissu adipeux dont la production est modulée par l'environnement hypoxique sont l'interleukine 6 (IL-6), le facteur de nécrose tumorale-α (TNF-α), les facteurs inhibiteurs de la migration des macrophages (MIF), le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF), le sérum amyloïde A, la leptine ainsi que l'adiponectine (Sun et coll. 2013; Trayhurn 2013). Cette dernière est une adipokine jouant un rôle déterminant dans la régulation de la dépense énergétique et, contrairement à la leptine, sa concentration plasmatique se retrouve diminuée chez les personnes obèses (Guerre-Millo 2008). Normalement sécrétée en abondance par le tissu adipeux, l'adiponectine améliore la sensibilité des cellules à l'insuline et possède également de nombreuses propriétés anti-macrophagiques, anti-athérogéniques et anti-inflammatoires (Matsuda et Shimomura 2014). Les études expérimentales *in vitro* ont observé qu'une baisse de l'oxygénation des cellules adipocytaires était responsable d'une sous-régulation des facteurs de transcription du récepteur activé par les proliférateurs de peroxysomes gamma (PPARγ) (Yun et coll. 2002), ce qui aurait pour ultime conséquence une augmentation de la résistance à l'insuline *via* l'inhibition de le la sécrétion d'adiponectine au sein des adipocytes (Chen et coll. 2006).

I.6.2.2 *L'Insulino-résistance*

En sus de la sécrétion d'adipokines, des études ont démontré une implication directe de l'hypoxie sur la baisse de la sensibilité des cellules adipeuses à l'insuline (Trayhurn 2013). Indépendamment du nombre de transporteurs insulino-dépendant du glucose (i.e. GLUT-4), une nette hausse de l'insulino-résistance intervient dans les 24 heures après l'incubation en hypoxie de cellules adipocytaires (humaines et animales), un phénomène étroitement lié avec la stabilisation des facteurs de transcription HIF-1 et HIF-2 (Regazzetti et coll. 2009; Yin et coll. 2009). Une inhibition de la voie de signalisation de l'insuline serait ainsi directement mise en cause *via* les inhibitions respectives de la phosphorylation des récepteurs β et substrats 1 à l'insuline (Regazzetti et coll. 2009; Yin et coll. 2009).

Dans le tissu adipeux, un autre rôle clé de l'hypoxie sur la baisse de la sensibilité à l'insuline est à mettre au profit des GLUT-4. En effet, une exposition de 48 heures à 1% d'O_2 sur des cellules adipocytaires humaines se traduit par une baisse significative de l'expression génique des GLUT-4 et se concrétise *in fine* par une baisse de sa synthèse protéique (Wood et coll. 2009). Ce mécanisme physiologique serait toutefois spécifique au GLUT-4 car l'expression génique et la synthèse protéique des transporteurs non insulino-dépendant du glucose (GLUT-1) sont augmentées, permettant ainsi l'entrée d'une partie du glucose extracellulaire dans les cellules adipeuses (Wood et coll. 2007). Enfin, le tissu adipeux blanc constitue un lieu privilégié de la production de lactate en raison de sa grande dépendance au métabolisme anaérobie (Hodson 2013). De la même façon que les tumeurs cancéreuses, les concentrations en lactate et en MCT-1[7] produites par des adipocytes incubés en hypoxie sont plus importantes qu'en normoxie (Pérez de Heredia et coll. 2010). La quantité de glucose convertie en lactate est directement corrélée à la taille des cellules adipeuses et il a été démontré que 70% de glucose consommé par les cellules adipeuses était, chez l'obèse, métabolisé sous forme de lactate (Marin et coll. 1987). De nos jours, le lactate n'est plus simplement perçu comme un simple métabolite final de la glycolyse. Il constitue également un facteur de signalisation impliqué dans les processus inflammatoires (Samuvel et coll. 2009), la résistance à l'insuline du muscle strié squelettique (Choi et coll. 2002) ou encore l'inhibition de la lipolyse au sein des adipocytes (Liu et coll. 2009).

La **figure 23** résume, sous forme d'un schéma, les effets de l'hypoxie sur le tissu adipeux blanc.

[7] Transporteur de monocarboxylate (type 1) (*Monocarboxylate transporter type 1)*.

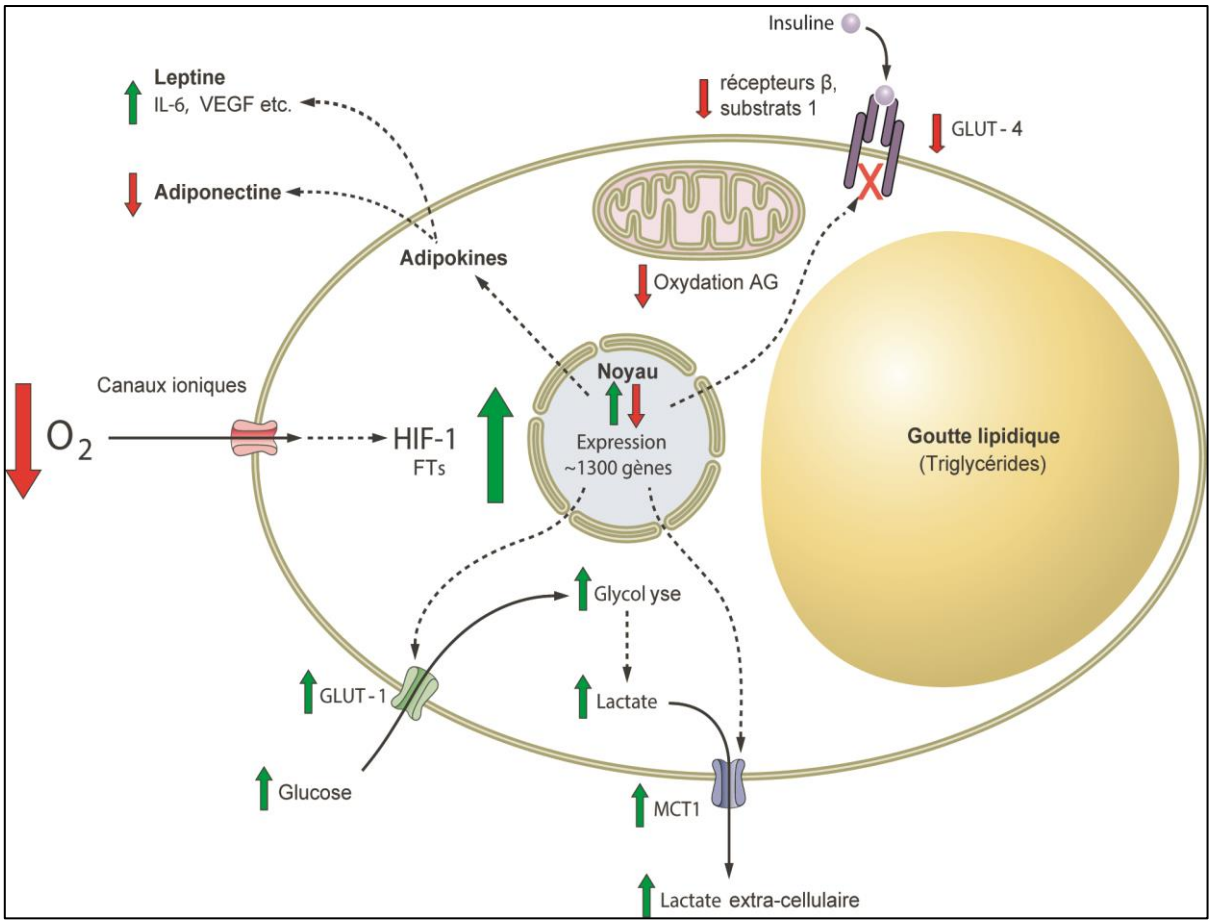


Figure 23 : Schéma illustrant les effets de l'hypoxie sur la sensibilité à l'insuline et les réponses pro-inflammatoires dans une cellule adipeuse blanche. VEGF, facteur de croissance de l'endothélium vasculaire ; IL-6, interleukine 6 ; FTs, facteurs de transcriptions ; AG, acides gras ; MCT-1, transporteur de monocarboxylate. Les flèches rouges et vertes indiquent respectivement une baisse ou une hausse de l'activité des variables mentionnées en réponse à la baisse de la concentration en O_2 (adaptation du schéma de Trayhurn *et coll.* 2013).

I.7 Le « paradoxe hypoxique » : cause et stratégie de traitement des facteurs de risques cardio-métaboliques ?

I.7.1 Protocoles hypoxiques chez les sujets atteints de troubles métaboliques

I.7.1.1 *Séjours en altitude*

Depuis près de quinze ans, un intérêt grandissant se porte sur l'utilisation de l'hypoxie dans le but de promouvoir une alternative non médicamenteuse de réduction des facteurs de risques cardio-métaboliques que nous pouvons rencontrer chez les obèses, les diabétiques (type 2) ou plus généralement chez les personnes présentant les symptômes d'un syndrome métabolique (**tableaux 4, 5 et 6**) (Quintero et coll. 2010; Wee et Climstein 2013). En 2000, dans le cadre d'une étude pilote d'un projet autrichien intitulé « AMAS 2000 »,

Schobersberger *et coll.* ont accompagné des patients avec un syndrome métabolique pendant une excursion de 3 semaines en moyenne montagne (1700 m.). Les auteurs ont constaté une amélioration du profil lipidique (HDLc), de la régulation cardio-vasculaire (baisse du produit rythme-pression) accompagnée d'une baisse de l'insulino-résistance (Schobersberger et coll. 2003). Lors d'une exposition en haute altitude d'une semaine (2650 m.), Lippl *et coll.* ont observé une baisse de la masse corporelle (~1,6 kg), de la pression diastolique (~13,3 mmHg) et une hausse du taux de leptine (~+2,1 $ng.ml^{-1}$) chez des personnes obèses (IMC = 30-35 $kg.m^{-2}$) (Lippl et coll. 2010). Bien qu'encourageantes, les conclusions de ces deux études ont été interprétées avec une très grande précaution, car l'absence de groupes témoins ne permet en aucun cas de discriminer la contribution relative de l'hypoxie par rapport à celle de l'exercice sur la diminution des risques cardio-métaboliques (Kayser et Verges 2013). Par la suite, la seconde partie du projet « AMAS 2000 » s'est vue enrichie d'un groupe contrôle et les résultats publiés sont alors apparus nettement plus contrastés (Greie et coll. 2006; Neumayr et coll. 2014). Les effets de l'hypoxie hypobarique naturelle n'ont, en effet, révélé aucun bénéfice supplémentaire par rapport au groupe participant à un programme d'entraînement de même intensité à 200 mètres d'altitude. Néanmoins, même en présence d'un groupe contrôle, les effets additionnels du froid en altitude rendent toujours peu exploitable l'interprétation des résultats de ces études.

Tableau 4 : Effets d'un programme en moyenne ou haute altitude sur les facteurs de risque cardio-métaboliques chez des obèses.

Altitude naturelle				
Auteurs	**Population**	**Altitude**	**Durée**	**Effets de l'hypoxie**
Schobersberger et coll. (2003)	- GA : 22 ♂ avec SM - Ø GC	- 1700 m.	- 3 sem.	- ↑ HDLc : +11,5% - ↑ SI : -52,5 % - ↔ LDLc - ↔ Triglycérides - ↔ Leptine - ↓ PAS / ↓ PRP
Greie et coll. (2006)	- GA : 36 ♂ avec SM - GC : 35 ♂ avec SM	- 1700 m. (GA) - 200 m. (GC)	- 3 sem.	- ↔ HDLc (GA et GC) - ↑ SI (GA et GC) - ↓ LDLc (GA et GC) - ↓ Poids (GA et GC) - ↓ PAS / ↓ PAD (GA et GC)
Lippl et coll. (2010)	- GA : 20 ♂ obèses avec SM (IMC : 34 ± 1,0) - Ø GC	2650 m.	- 1 sem.	- ↑ Leptine : + 5,9 % - ↓ Poids : - 1,4 % - ↔ Triglycérides - ↔ SI
Neumayr et coll. (2014)	- GA 36 ♂ avec SM - GC : 35 ♂ avec SM	- 1700 m. - 200 m.	- 3 sem.	- ↓ RPP / ↓ PAM / ↓ PAS (GA et GC) - ↓ Poids (GA et GC)

GA, groupe altitude ; GC, groupe contrôle ; SM, syndrome métabolique ; HDLc, lipoprotéines de haute densité transportant le cholestérol ; LDLc, lipoprotéines de basse densité transportant le cholestérol ; SI, sensibilité à l'insuline ; PAS, pression artérielle systolique ; PAD, pression artérielle diastolique ; RPP, *rate-pressure product* (PAS x Fc).

I.7.1.2 *Effets de l'hypoxie per se*

En 2012, Workman *et coll.* ont étudié les effets de l'hypoxie normobarique ($\overline{SaO_2}$ = 80%) sur la dépense énergétique de repos et l'utilisation des substrats énergétiques (calorimétrie indirecte) chez des sujets sédentaires en surpoids (IMC = 27-28 $kg.m^{-2}$). Cette étude comprenait deux protocoles hypoxiques bien distincts : une exposition brève à l'hypoxie normobarique (3 heures) ainsi qu'un programme comprenant quotidiennement 3 heures d'hypoxie continue pendant 7 jours consécutifs (Workman et Basset 2012). Dans les deux protocoles hypoxiques, les auteurs ont observé une hausse de la dépense énergétique de repos de 16% (exposition aiguë) et de 12% (programme sur 7 jours). Ces résultats étaient associés à une baisse de l'oxydation des glucides et à une augmentation de l'oxydation des lipides de 44% pour l'exposition aiguë et de 29% pour le programme de 7 jours en hypoxie.

Chez des diabétiques de type 2, une seule exposition passive (60 min.) en hypoxie normobarique (FiO_2 = 14,6%) était suffisante pour abaisser le glucose sanguin de 0,74 $mmol.L^{-1}$ (Mackenzie et coll. 2011). De plus, l'amélioration de la régulation glycémique s'accompagnait d'une hausse de la sensibilité périphérique à l'insuline [-0,86 $10^{-4}.min^{-1}$ ($\mu U.mL^{-1}$)] au cours d'un test de tolérance au glucose (Mackenzie et coll. 2011). Récemment, ces résultats ont pu être confirmés chez des obèses (IMC~33 $kg.m^{-2}$) ayant passé 10 nuits consécutives sous hypoxie normobarique (FiO_2 = 14,5%) (Lecoultre et coll. 2014). En plus d'une perte de poids (~1,2 kg), les auteurs ont observé une baisse moyenne de 3,0 $mg.dL^{-1}$ de la concentration en glucose plasmatique concomitante avec une hausse de la sensibilité périphérique et hépatique à l'insuline. En effet, les résultats décrivaient un temps d'élimination du glucose supérieur d'environ 20% après le protocole hypoxique, avec des hausses remarquables de plus de 38% dans la moitié des cas observés (Lecoultre et coll. 2014).

Tableau 5 : Effets de l'hypoxie *per se* sur les facteurs de risques métaboliques chez des sujets diabétiques, obèses ou en surpoids.

Hypoxie per se				
Auteurs	**Population**	**FiO_2 / SaO_2**	**Durée**	**Effets de l'hypoxie**
Mackenzie et coll. (2011)	- 8 ♂ diabétiques insulino-résistant - *Sham*	- HN GH : FiO_2 = 14,6 % (2400 m.) *Sham* : FiO_2 ?	1 session de 60 min.	- ↓ glucose : - 10% - ↔ Insuline - ↑ SI
Workman et coll. (2012)	- GH : 11 ♂ en surpoids (IMC : 27-28) - GC : ♂ en surpoids (IMC : 27-28)	- HN - GH : $\overline{SaO_2}$= 80% - GC : $\overline{SaO_2}$?	2 modalités : - 1 session de 3 h. - 1 session, 3h./j. pendant 7 j.	Effets de 1 seule session : - ↑ DER : + 16% - ↑ Oxy. lipides : + 44% Effets après 7 jours: - ↑ DER : + 12% - ↑ Oxy. lipides : + 29%
Lecoultre et coll. (2014)	- GH : 8 ♂ obèses (IMC : 32,7 ± 1,3) - Ø GC	- HN - FiO_2 = 14,5 % (2400 m.)	- 10 nuits de 10 h.	- ↓ glucose : - 3,2 % - ↑ TEG : +20 %
Morishima et coll. (2014)	-GH : 8 ♂ en surpoids (IMC : 28,6 ± 0,8) - *Sham*	- HN - GH : FiO_2 = 15 % (2500 m.) - *Sham* : FIO_2 = 20,9 %	- 3 sessions de 30 min espacées de 150 min.	- ↔ Oxy. glucides - ↔ Oxy. lipides - ↔ glucose - ↔ Insuline - ↔ SI

GH, groupe hypoxique ; GC, groupe contrôle ; HN, hypoxie normobarique ; DER, dépense énergétique de repos ; oxy, oxydation ; SI, sensibilité à l'insuline ; TEG, temps d'élimination du glucose ; FiO_2, fraction d'oxygène inspirée ; *Sham*, les sujets sont leur propre contrôle.

I.7.1.3 *Hypoxie et exercice*

Netzer *et coll.* ont démontré qu'un programme d'entraînement de faible intensité en hypoxie normobarique (60% de la Fc atteinte à $\dot{V}O_{2max}$; FiO_2 = 15%) pendant 90 minutes, 3 fois par semaine pendant 8 semaines provoquait chez des sujets obèses ou en surpoids (IMC > 27 $kg.m^{-2}$) une perte de poids uniquement lors des sessions d'entraînement en hypoxie (-1,14 vs. -0,03 kg ; p = 0,026) (Netzer et coll. 2008)]. Dans une population aux caractéristiques anthropométriques similaires, un régime alimentaire hypocalorique associé à 4 semaines d'entraînement intensif en hypoxie (22 heures par semaine, FiO_2, 14,5-16,4%) combinant des exercices de type aérobie (50-70% de la Fc_{max}) et de renforcement musculaire (40-50% d'1RM) s'est donc conclu par une baisse plus importante de la masse corporelle dans le groupe hypoxique (-6,9 vs. -4,3 kg ; p < 0,01) (Kong et coll. 2013). Uniquement lors de l'entraînement en hypoxie, cette même étude a également rapporté des effets hypotenseurs comme le démontre la diminution respective de 8% et de 7% de la pression artérielle systolique (PAS) et de la pression artérielle moyenne (PAM). Par ailleurs, deux études successives conduites par la même équipe de recherche chez des diabétiques de type 2 ont démontré que l'association d'une seule exposition modérée à l'hypoxie normobarique (60 minutes, FiO_2=14,6%) avec un exercice continu réalisé à 90% du seuil lactique (50-55% du $\dot{V}O_{2max}$) avait des effets synergiques sur l'amélioration de la sensibilité à l'insuline (Mackenzie et coll. 2011; Mackenzie et coll. 2012). En revanche, il est intéressant de souligner que l'action synergique de ces deux stimuli était, étonnamment, inexistante lorsque l'activité physique était pratiquée de façon intermittente (120 % du seuil lactique) (Mackenzie et coll. 2012)]. Enfin, cette dernière étude a, pour la toute première fois, mis en en évidence que l'hypoxie modérée était en mesure de produire des effets anti-inflammatoires chez des sujets porteurs de troubles métaboliques, comme le démontre les chutes significatives du TNF-α allant de ~20 à ~8% selon la modalité de l'exercice (Mackenzie et coll. 2012).

Tableau 6 : Effets de l'hypoxie et de l'exercice sur les facteurs de risque cardio-métaboliques chez des sujets diabétiques, obèses ou en surpoids.

Hypoxie + exercice				
Auteurs	**Population**	**FiO_2 / PIO_2**	**Durée / Intensité**	**Effets de l'hypoxie**
Netzer et coll. (2008)	- GH : 8 ♀ et 2 ♂ obèses / surpoids (IMC > 27) - GC : 8 ♀ et 2 ♂ (IMC > 27)	- HN - GH : FIO_2 = 15% (2500 m.) - GC : FIO_2 = 20% (450 m.)	- 90 min./j, 3x/sem. pendant 8 sem. - 60% Fc atteinte à $\dot{V}O_{2max}$	- ↓ Poids : - 1,1 % (GA) - ↔ Triglycérides - ↔ HDLc
Wiesner et coll. 2010	- GH : 14 ♀ et 10 ♂ obèses/surpoids (IMC : 33,1 ± 0,3) - GC : 13 ♀ et 8 ♂ obèses / surpoids (IMC : 32,5 ± 0,8)	-HN - GH : PIO_2 = 103 mmHg (2740 m.) - GC : PIO_2 = 150 mmHg	- 60 min./j., 3x/sem. pendant 4 sem. - 65% de la Fc atteinte à $\dot{V}O_{2max}$	- ↓ MG / ↑ MM - ↓ tour de taille - ↔ Triglycérides - ↔ Insuline / ↔ SI - ↔ PAS / ↔ PAD
Mackenzie et coll. (2011)	- 8 ♂ diabétiques insulino-résistant - *Sham*	- HN - FiO_2 = 14,6 % (2400 m.)	- 1 session de 60 min. - 50-55 % de $\dot{V}O_{2max}$	- ↓ glucose : - 1.82 $mmol.L^{-1}$ - ↔ Insuline / ↑ SI : + 26 %
Mackenzie et coll. (2012)	- GH : 8 ♂ diabétiques insulino-résistant - *sham*	- HN - GH : FiO_2 = 14,7 % (2400 m.) - *Sham* : FiO_2?	2 modalités : - exercice continu à 60% du SL1 (1 session) - exercice intermittent (5 min. d'exercice / 5 min. de récupération) à 120% du SL1) (1 session)	- ↓ glucose (continu : - 19,5% / intermittent : - 12,0 %) - ↑ SI (↑↑ continu / ↑ intermittent) - ↓ TNF-α
Kong et coll. (2013)	- GH : 5 ♀ et 5 ♂ obèses/surpoids (IMC : 34,7 ± 5,3) - GC : 3 ♀ et 5 ♂ obèses/surpoids (IMC : 33,8 ± 5,6)	- HN - GH : FIO_2 = 14,5 - 16,4 % - GC : FiO_2 = 20 %	- 22 h./sem. (6 h. d'hypoxie) pendant 4 semaines - renforcement musculaire (40 - 50 % de 1-RM) + entraînement aérobie (50 -70 % de la Fc_{max})	- ↓ Poids / ↓ IMC / ↓ RTH - ↓ MG / ↔ MM - ↓ PAS / ↓ PAM
Morishima et coll. (2014)	- GH :8 ♂ en surpoids (IMC : 28,6 ± 0,8) - *Sham*	- HN - GH : FIO_2 = 15 % (2500 m.) - *Sham* : FIO_2 = 20,9 %	- 3 sessions de 30 min espacées de 150 min. - 60 % de la Fc atteinte à $\dot{V}O_{2max}$	- ↑ Oxy. glucides : + 10,5 % - ↓ Oxy. lipides : - 10,5 % - ↔ glucose / ↔ Insuline / ↔ SI

GH, groupe hypoxique ; GC, groupe contrôle ; SI, sensibilité à l'insuline ; Oxy., oxydation ; FiO_2, fraction d'oxygène inspirée ; PiO_2, pression partielle d'oxygène inspirée ; MG, masse grasse ; MM, masse maigre ; PAM, pression artérielle moyenne ; PAS, pression artérielle systolique ; PAD, pression artérielle diastolique ; IMC, indice de masse corporelle, TNF-α ; facteur de nécrose tumorale α ; RTH, ratio tour de taille-tour de hanche ; $\dot{V}O_{2max}$: consommation maximale d'oxygène ; Fc_{max}, fréquence cardiaque maximale ; 1-RM, répétition maximale.

I.7.2 Mécanismes d'actions de l'hypoxie sur les paramètres métaboliques : premières hypothèses

I.7.2.1 *Régulation de la glycémie*

Des études ont montré que résider en altitude diminuait substantiellement la glycémie et la prévalence du diabète de type 2 (Castillo et coll. 2007; Woolcott et coll. 2015). Une exposition continue à une altitude simulée de 4300 mètres améliore la tolérance des cellules au glucose chez des sujets en bonne santé (Kelly et coll. 2010). Ceci démontre que l'hypoxie jouerait un rôle prépondérant sur la régulation de la glycémie et la sensibilité des cellules à l'insuline (Lee et coll. 2003; Lecoultre et coll. 2014). En condition *in vitro* ou *in vivo*, il est désormais admis que l'hypoxie déclenche une augmentation de la consommation de glucose par le tissu musculaire squelettique (Cartee et coll. 1991; Roberts et coll. 1996). Ce mécanisme serait indépendant de l'action de l'insuline, car il emprunterait des voies de signalisation semblables à l'entrée du glucose induite par l'activité contractile du muscle (Fisher et coll. 2002). En effet, l'hypoxie *per se* entraîne une libération d'ions calciques du réticulum sarcoplasmique vers le milieu intracellulaire, ce qui déclencherait l'activation des protéines kinases calcium/calmoduline dépendantes (CaMK). Ces dernières inhiberaient le complexe protéique TBC1D4/TBC1D1[8] (Sakamoto et Holman 2008), facilitant l'entrée du glucose *via* la translocation des GLUT-4 (Wright et coll. 2005), le transporteur du glucose le plus exprimé au sein du tissu musculaire squelettique (MacLean et coll. 2002). Parallèlement, l'hypoxie déclenche l'activation de la protéine kinase activée par l'AMP (AMPK), une entité sensible aux radicaux libres et/ou à tout type de stress énergétique [hausse du ratio AMP/ATP (Emerling et coll. 2009; Richter et Hargreaves 2013)]. L'AMPK participe, entre autres, à la régulation du métabolisme glucidique en stimulant la glycolyse et, à l'instar des ions calciques, facilite la translocation du transport de glucose GLUT-4 (Fujii et coll. 2006). Ces mécanismes cellulaires, résumés sous forme d'un schéma dans la **figure 24**, seraient à l'origine des effets hypoglycémiants de l'environnement hypoxique chez l'être humain (Chen et coll. 2011; Chen et coll. 2013; Goto 2013).

[8] Protéines impliquées dans la translocation des GLUT-4.

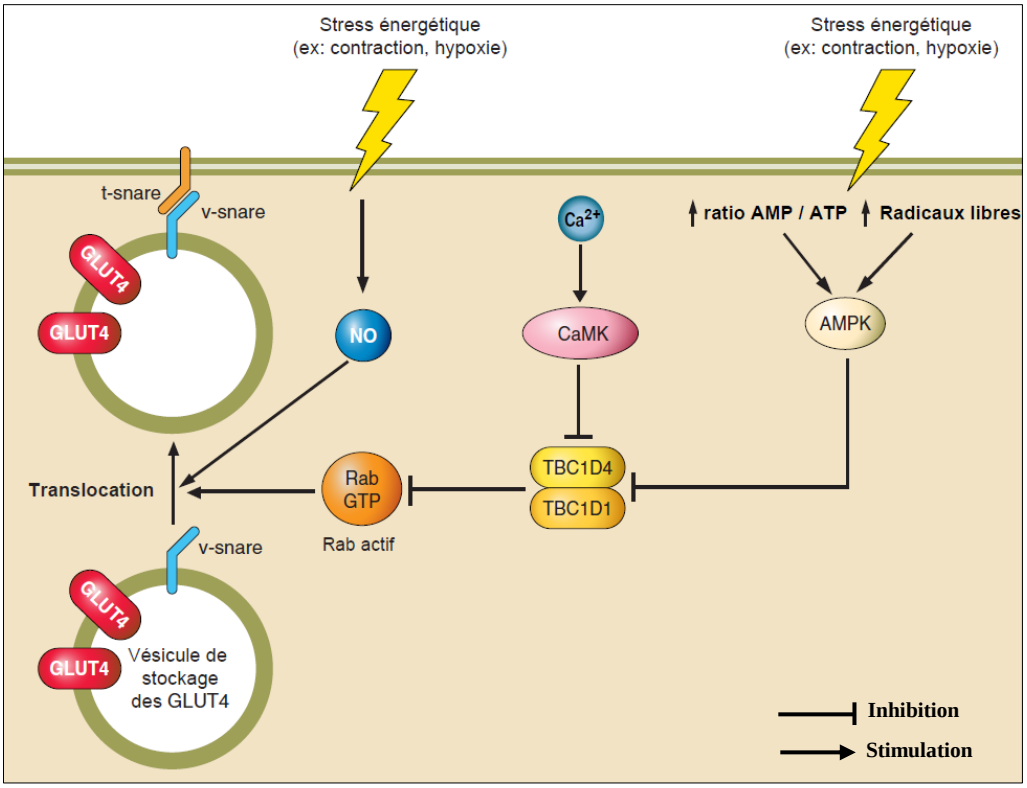


Figure 24 : Schéma des effets d'un stress énergétique (contraction, hypoxie) sur la translocation des transporteurs du glucose GLUT-4 au sein d'une cellule musculaire. NO, monoxyde d'azote ; TBC1D4/TBC1D1, protéines impliquées dans la translocation des GLUT-4 ; AMP, adénosine monophosphate ; ATP, adénosine triphosphate ; rab, protéine décrite comme un « interrupteur moléculaire » basculant entre un état actif, lié à une molécule de GTP (guanine triphosphate) ou un état inactif, lié au GDP (Guanine diphosphate, non représenté sur ce schéma) ; snare, protéines servant à la fusion entre les vésicules (v-snare) et la surface cible de la membrane (t-snare, t pour *target*) (schéma revisité de Richter *et Hargreaves*, 2013).

I.7.2.2 *Dépense énergétique et métabolisme basal*

Chez l'adulte sain, il est depuis longtemps reconnu qu'une exposition de quelques jours à quelques semaines à l'hypoxie hypobarique naturelle accroît le métabolisme basal dès les premiers jours d'ascension (Butterfield et coll. 1992; Mawson et coll. 2000; Hamad et Travis 2006). L'augmentation est fonction de l'altitude à laquelle les sujets sont exposés : +6% à 3650 mètres ; +10% et +27% à 3800 mètres et 4300 mètres, respectivement (Kellogg et coll. 1957; Stock et coll. 1978; Butterfield et coll. 1992).

Une des raisons principales à l'origine de l'élévation du métabolisme basal et de la perte de poids sous hypoxie est très probablement liée à l'utilisation prioritaire de la glycolyse anaérobie au détriment du métabolisme oxydatif (Palmer et Clegg 2014a). La moindre dépendance énergétique envers la respiration mitochondriale représente un mécanisme de protection anticipatoire contre la production de radicaux libres (potentiellement néfaste pour

le métabolisme cellulaire) dont la quantité est proportionnelle au degré d'hypoxie (Wheaton et Chandel 2011). En situation hypoxique, le métabolisme énergétique de la cellule reposerait donc essentiellement sur la dégradation du glucose et des lactates (Palmer et Clegg 2014b). Dans le champ de la physiopathologie cancéreuse, le mécanisme par lequel la glycolyse devient le système prioritaire dans la synthèse d'ATP a été nommé « effet Warburg ». Il se traduit par une augmentation de la néoglucogenèse *via* l'activation du cycle de Cori dans les cellules hépatiques (**figure 25**). Chez des patients atteints d'un cancer, il a été estimé que le cycle de Cori est tenu pour responsable d'une dépense énergétique journalière supplémentaire pouvant atteindre 300 Kcal (Edén et coll. 1984). Sachant que HIF accroît la synthèse de phosphoenolpyruvate carboxykinase[9] (PEPCK, (Choi et coll. 2005) ; il est probable que ce mécanisme (néoglucogenèse) responsable d'une baisse de la masse corporelle dans certaines formes de cancer puisse être transposé aux effets des protocoles hypoxiques sur la dépense énergétique (Palmer et Clegg 2014a).

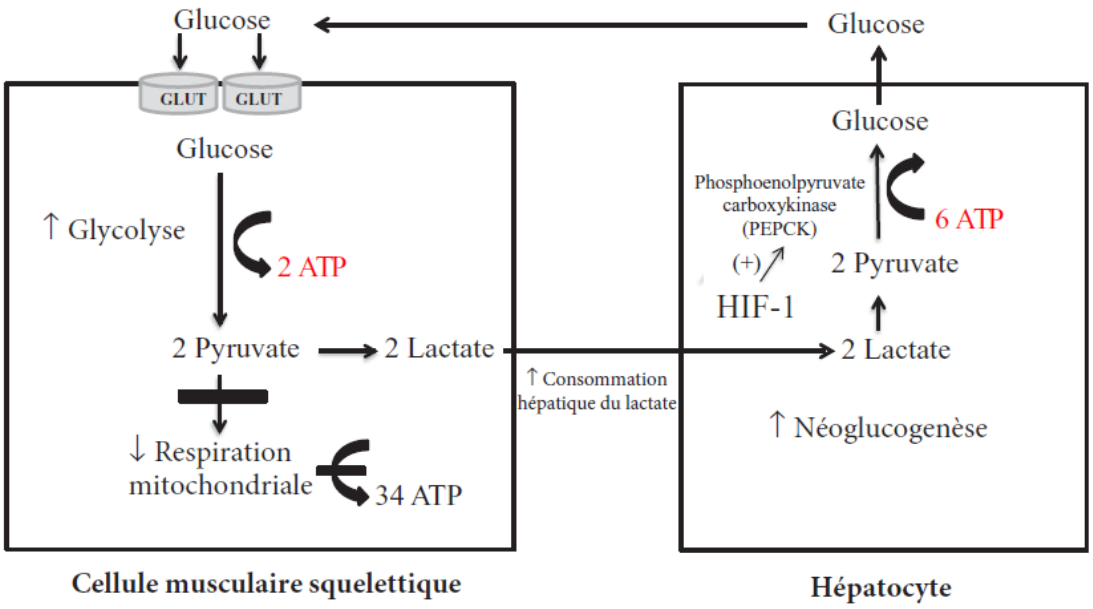


Figure 25 : Hausse de la dépense énergétique en hypoxie en raison d'une suractivité du cycle de Cori. Pour une molécule de glucose, 2 molécules d'ATP sont synthétisées par la glycolyse alors que 6 molécules d'ATP sont nécessaires à la néoglucogenèse : ce déséquilibre énergétique expliquerait en partie la hausse du métabolisme basal en hypoxie (d'après Palmer *et coll.* 2014).

Enfin, l'activité thyroïdienne (Hamad et Travis 2006) mais aussi l'augmentation de l'activité sympathique constituent également des hypothèses explicatives à ne pas négliger,

[9] Enzyme catalysant les réactions chimiques intervenant dans la néoglucogenèse.

car l'administration de bêtabloquants inhibait partiellement la hausse du métabolisme de base induite par l'hypoxie (Moore et coll. 1987).

I.7.2.3 *Effets anorexigènes*

Découverte en 1994, la leptine (du grec *leptos*, mince) est une hormone peptidique anorexigène sécrétée par les cellules du tissu adipeux (adipocytes) dont la concentration plasmatique est proportionnelle à la quantité de masse adipeuse totale (Zhang et coll. 1994). Première hormone identifiée comme signal d'adiposité, celle-ci agit directement au niveau des régions cérébrales afin d'inhiber la prise alimentaire mais aussi dans le but d'augmenter la dépense énergétique (Morton et coll. 2006). Ultérieurement, il a été découvert que la région régulatrice du gène codant pour la leptine possédait un promoteur proximal (site de réponse) au facteur de transcription HIF-1 (Ambrosini et coll. 2002), expliquant de ce fait l'intérêt direct de l'hypoxie dans le traitement du surpoids et de l'obésité (Palmer et Clegg 2014a). En dépit de cette découverte, la relation de cause à effet entre le rôle joué par la hausse de leptine sur la perte de poids après une exposition à l'hypoxie demeure néanmoins paradoxalement controversée (Sierra-Johnson et coll. 2008). Ces divergences pourraient être liées au moment de la journée à laquelle les prélèvements sont effectués, car chez l'être humain, la sécrétion de leptine n'est pas continue mais pulsatile et est, de surcroît, corrélée au cycle circadien (Ribeiro et coll. 2007). De plus, la perte de poids *per se* diminue le taux de leptine circulante car celle-ci est sécrétée par les cellules adipeuses. Par conséquent, une diminution de la masse adipeuse pourrait masquer l'effet stimulateur de l'hypoxie sur la production de leptine et ce phénomène expliquerait les divergences à ce sujet au sein de la littérature (Palmer et Clegg 2014a). Lorsque ce facteur « poids » est contrôlé, les études se raréfient, mais il semble que l'hypoxie *per se* favoriserait la production de leptine (Simler et coll. 2007). Chez des souris obèses déficientes en récepteurs à la leptine, une baisse de l'apport énergétique a tout de même été constatée après une exposition à l'hypoxie, démontrant que d'autres hormones que la leptine interviennent dans la perte de poids induite par l'hypoxie (Simler et coll. 2006). Ainsi, d'autres molécules (an)orexigènes telles que la ghréline, le neuropeptide Y (NPY), la galanine (GAL) ou encore la cholécystokinine (CCK) ont été proposées comme médiateurs impliqués dans la perte de poids déclenchée par l'hypoxie (Bailey et coll. 2000; Singh et coll. 2001; Wasse et coll. 2011; Debevec et coll. 2014), mais les mécanismes d'action sous-jacents de l'hypoxie sur la régulation et la sécrétion de ces molécules sont aujourd'hui encore méconnus.

La baisse de l'appétit entraînée par l'hypoxie pourrait être le résultat d'une augmentation de l'activité des facteurs de transcription HIF directement au sein de l'hypothalamus. Chez l'animal, la sous-unité HIF-2α est exprimée au niveau du noyau arqué hypothalamique et celle-ci jouerait un rôle direct de « capteur nutritionnel » dans l'homéostasie de la dépense énergétique et de l'appétit *via* un contrôle de l'expression génique de la pro-opiomélanocortine [POMC[10] (Virtue et Vidal-Puig 2011)]. Ainsi, une étude a démontré que la suppression sélective de la sous-unité HIF-2α dans l'hypothalamus avait pour conséquence une augmentation de la masse corporelle et une réduction de la dépense énergétique alors, qu'au contraire, sa surexpression créait un phénotype d'hypermétabolisme résistant à toute forme de surnutrition (Zhang et coll. 2011).

Enfin, selon une approche strictement corrélative, des études ont aussi mis en avant qu'une brève exposition à l'hypoxie induisait une augmentation de la concentration en 5-hydroxytryptamine (sérotonine, 5-HT) dans le sang, un phénomène observé à la fois chez l'être humain et l'animal (Gonzales 1980; Urdampilleta et coll. 2012). Les processus impliqués dans le contrôle de l'apport énergétique et de la régulation de la masse corporelle sont en grande partie influencés par la sérotonine, un neurotransmetteur très largement reconnu pour son puissant effet anorexigène (Fidalgo et coll. 2013). L'hypoxie pourrait donc constituer une alternative crédible aux différents agents pharmacologiques sérotoninergiques dont la prescription a été progressivement abandonnée en raison d'effets secondaires indésirables (Halford et Harrold 2012).

I.7.3 L'hypoxie intermittente

I.7.3.1 *Hypoxie intermittente « modérée » vs. hypoxie intermittente « sévère »*

Les premiers travaux s'intéressant aux bénéfices de l'hypoxie dans le contexte clinique remontent à plusieurs décennies et proviennent de l'ex-Union soviétique (Bulatov et coll. 1977; Berezovsky et coll. 1985; Karash et coll. 1988; Meerson et coll. 1990). Méconnus de la communauté scientifique [(articles parus en Russe) (Serebrovskaya 2002)], ces derniers s'appuyaient sur des protocoles comprenant une exposition passive et intermittente à l'hypoxie, une forme d'exposition qui contraste avec la plupart des protocoles hypoxiques actuels qui utilisent une exposition continue à l'hypoxie. Né dans les années 1940, le concept d'exposition intermittente à l'hypoxie et ses premières applications chez l'être humain sont

[10] Précurseur protéique présent dans un certain nombre de cellules ou noyaux dont l'action principale est de promouvoir, *via* la formation d'hormones peptidiques, l'inhibition de la prise alimentaire et le stockage énergétique.

apparus dans le domaine de l'aéronautique. En effet, ce type de protocole a été pensé en premier lieu pour améliorer la tolérance à l'hypoxie des pilotes d'avion qui, à cette époque, volaient dans des cockpits ouverts à plus de 5000 mètres d'altitude (Ivashkevich et Serebrovskaya 2000).

Aujourd'hui, l'exposition répétée à l'hypoxie intermittente (HI) montre de nombreux effets positifs dans le traitement et/ou la prophylaxie d'un vaste éventail de pathologies telles que les broncho-pneumopathies obstructives chroniques (BPCO), l'asthme bronchique, l'hypertension artérielle, l'ostéopénie, la dépression ou encore la maladie d'Alzheimer (Basovich 2013; Serebrovskaya 2014). Toutefois, la tendance actuelle penche vers une réputation plutôt négative de l'HI, notamment dans le champ de la médecine du sommeil (Mateika et coll. 2015). Dans ce domaine, l'HI est en effet utilisée depuis plusieurs années comme un modèle d'étude des comorbidités associées aux pathologies obstructives du sommeil (Lavie 2014). Bien que s'appuyant sur une HI, ces études proposent des doses hypoxiques « extrêmes » (FiO_2 = 3-8% ; 48 à 2400 cycles.jour^{-1}), bien plus élevées que les doses utilisées pour une utilisation thérapeutique de l'HI (FiO_2 = 9-16% ; < 15 cycles.jour^{-1}) (Navarrete-Opazo et Mitchell 2014). Les répercussions de l'HI seraient donc étroitement liées à la dose hypoxique administrée. Ainsi, dans le cas d'expositions répétées à l'HI « sévère », des répercussions néfastes sont à prévoir sur l'organisme alors que l'administration d'une dose « modérée » d'HI pourrait se révéler bénéfique dans un certain nombre de pathologies chroniques (**figure 26**) (Navarrete-Opazo et Mitchell 2014; Dempsey et Morgan 2015; Mateika et coll. 2015; Verges et coll. 2015).

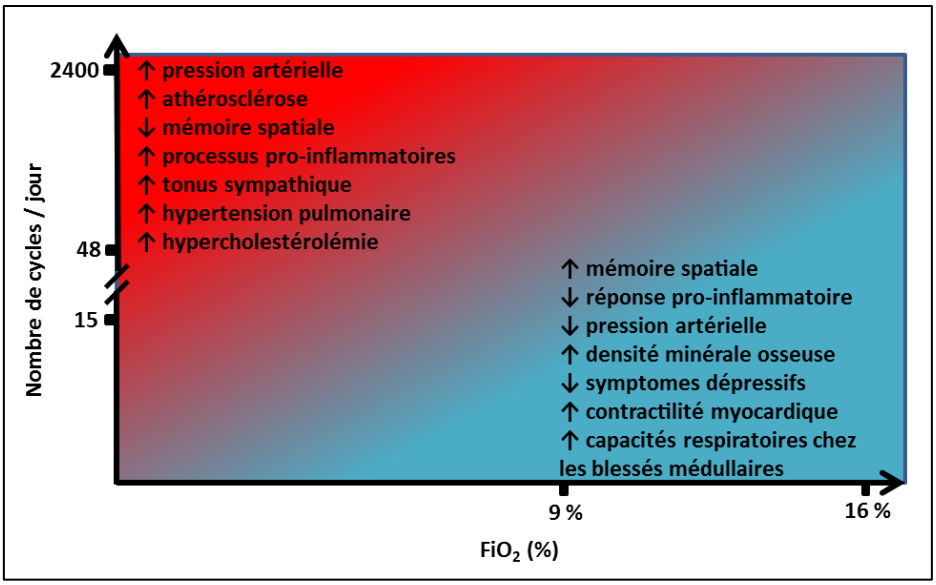


Figure 26 : Effets de l'hypoxie intermittente en fonction de la dose hypoxique administrée (d'après Navarrete-Opazo *et coll.* 2014).

I.7.3.2 *Une méthode pour réduire les facteurs de risques cardio-métaboliques ?*

Par rapport à l'administration d'une dose hypoxique continue, l'HI se traduit par une succession de cycles d'hypoxie-réoxygénation au sein d'une même session d'entraînement. Un des facteurs clés des effets néfastes de l'hypoxie « sévère » pendant le cycle d'hypoxie-réoxygation provient de la production excessive de radicaux libres au sein de la mitochondrie, ce qui augmente le stress oxydant susceptible d'entraîner des dommages cellulaires (Cour et Argaud 2010; Prabhakar et Semenza 2012). Cet excès de radicaux libres conduit en particulier, par peroxydation lipidique, à des lésions des membranes cellulaires (dont la membrane mitochondriale), mais aussi à une activation indirecte de l'inflammation en recrutant les leucocytes et en stimulant la production de cytokines pro-inflammatoires (Dupic et coll. 2010). À l'inverse, l'administration d'une HI « modérée » diminuerait le stress oxydant et l'inflammation en stimulant les systèmes antioxydants endogènes [(e.g. superoxyde dismutase, catalase (Belikova et coll. 2012; Swanson et Serebrovska 2012)], expliquant pour partie les effets bénéfiques de ce type d'HI dans le traitement de pathologies chroniques (Xi et Serebrovskaya 2012).

Nous avons vu que l'hypoxie chronique des cellules adipocytaires jouait un rôle central dans la physiopathologie des comorbidités liées à l'obésité. Cette théorie hypoxique explique très probablement pourquoi de nombreux travaux considèrent, aujourd'hui, le stress oxydant comme un acteur majeur dans l'aggravation des comorbidités associées à l'obésité (Bondia-Pons et coll. 2012; Yubero-Serrano et coll. 2013; Bullon et coll. 2014; Le Lay et coll. 2014;

Matsuda et Shimomura 2014). Ainsi, et compte tenu des effets potentiellement bénéfiques de l'HI « modérée », nous avons émis l'hypothèse que ce type d'HI pouvait avoir des effets bénéfiques sur les principaux facteurs de risques cadio-métaboliques chez des personnes obèses ou en surpoids (**étude 5**). Si l'hypothèse est confirmée, un programme d'entraînement passif à l'HI pourrait être envisagé comme une thérapeutique non médicamenteuse pour des personnes obèses, diabétiques ou porteur d'un syndrome métabolique.

BUT GÉNÉRAL DE LA THÈSE

Cette thèse a pour objectif principal d'étudier les effets de l'hypoxie chez le sujet sain et pathologique. Le mémoire de thèse se divise en cinq études :

Étude 1a / 1b : La première étude, subdivisée en deux projets, portera sur l'analyse des cinétiques hémodynamiques du réflexe de plongée au cours d'une hypoxémie induite par l'apnée statique (Projet PhysioFlow et BradyModeling).

Hypothèse 1a : Les cinétiques hémodynamiques sont plus prononcées pendant l'apnée statique en immersion par rapport à une apnée statique réalisée à l'air libre chez les apnéistes.

Hypothèse 1b : Un modèle de régression non-linéaire tri-phasique est plus adapté que le modèle proposé par Caspers *et coll.* pour quantifier la bradycardie lors d'une apnée statique de plusieurs minutes.

Étude 2 : La deuxième étude s'intéressera aux effets de l'hypoxémie induite par l'apnée dynamique sur les cinétiques hémodynamiques et l'oxygénation musculaire (projet FreeHypox).

Hypothèse 2 : Les apnéistes montrent des cinétiques hémodynamiques (cardiaque et périphérique) plus efficientes que les non-apnéistes au cours d'une hypoxémie induite par l'apnée dynamique.

Étude 3 : La troisième étude s'intéressera aux effets de l'hypoxie poïkilocapnique et de l'hypercapnie sur les paramètres ventilatoires et hémodynamiques chez des apnéistes (projet CarbOxy).

Hypothèse 3 : Les apnéistes possèdent une réponse cardio-ventilatoire à l'hypoxie poïkilocapnique au repos et à l'effort plus efficiente que les non-apnéistes, sans modification de la réponse ventilatoire à l'hypercapnie.

Étude 4 : La quatrième étude s'intéressera aux effets de l'apnée sur un bio-marqueur de l'hypoxie, l'adénosine, afin de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques intervenant dans la syncope (projet Adéno).

Hypothèse 4 : Les concentrations plasmatiques en adénosine dosées avant, pendant, et après une apnée sous-maximale chez les apnéistes « syncopeurs » sont supérieures à celles d'apnéistes « non-syncopeurs ».

Étude 5 : La cinquième et dernière étude portera sur les effets d'un programme d'hypoxie intermittente passif sur les paramètres cardio-métaboliques chez des sujets obèses ou en surpoids (projet IHE).

Hypothèse 5 : Un programme d'hypoxie intermittente « modérée » réduit les facteurs de risque cardio-métaboliques chez des personnes obèses ou en surpoids.

PARTIE II :

MATÉRIELS ET MÉTHODES

II.1 Population étudiée

Au total, soixante-dix-sept sujets ont été recrutés dans le cadre de cette thèse. Les caractéristiques anthropométriques des participants sont présentées dans le **tableau 7**. Vingt-six apnéistes et quinze non-apnéistes sains volontaires ont été recrutés dans le cadre des 3 premiers protocoles expérimentaux études (PhysioFlow / BradyModeling, FreeHypox et CarbOxy). Dans le cadre du projet Adéno, vingt apnéistes de niveau international ont été recrutés puis séparés en deux groupes, l'un composé d'apnéistes « syncopeurs » et l'autre d'apnéistes « non-syncopeurs ». Le projet Adéno a par ailleurs nécessité l'inclusion de dix sujets sains faisant office de groupe témoin. Enfin, 6 sujets obèses ou en surpoids ($\overline{\text{IMC}}$ = 30,6 ± 1,4 kg.m^{-2}) ont participé à la cinquième et dernière étude comptant pour le projet IHE.

Ce tableau regroupe aussi l'expérience des apnéistes incluant leur record personnel en apnée (statique et dynamique), leur nombre d'années de pratique ainsi que leur nombre d'heures d'entraînement par semaine. Les participants ont été au préalable informés sur les objectifs et le déroulement des études et signaient ensuite un formulaire de consentement éclairé indiquant qu'ils comprenaient la nature de leur participation à l'étude, conformément à la déclaration d'Helsinki.

Tableau 7 : Résumé des caractéristiques anthropométriques des participants.

	ETUDES EXPERIMENTALES								
	Etude n°1	**Etude n°2**		**Etude n°3**		**Etude n°4**			**Etude n°5**
Projets (intitulés)	*PhysioFlow / BradyModeling*	*FreeHypox*		*CarbOxy*		*Adéno*			*IHE*
Population	Apnéistes (n=11)	Apnéistes (n=8)	Témoins (n=8)	Apnéistes (n=7)	Témoins (n=7)	Apnéistes « syncopeurs » (n=11)	Apnéistes « non-syncopeurs » (n=9)	Témoins (n=10)	Obèses / surpoids (n=6)
Sexe (H / F)	10 H / 1 F	8 H	8 H	7 H	7 H	11 H	8 H / 1 F	9 H / 1 F	4 H / 2 F
Âge (ans)	36,0 ± 9,6	38,8 ± 8,6	36,0 ± 7,8	37,3 ± 12,8	31,9 ± 5,6	36,0 ± 7,1	38,1 ± 9,3	38 ± 9	56,2 ± 10,0
Taille (cm)	175,7 ± 4,2	177,6 ± 6,6	178,3 ± 6,5	177,9 ± 2,2	174,4 ± 9,4	180,0 ± 7,2	178,8 ± 8,8	--	171,9 ± 12,9
Masse corporelle (kg)	71,2 ± 8,9	79,4 ± 15,0	76,9 ± 16,1	74,5 ± 8,4	70,9 ± 12,7	75,8 ± 9,3	79,1 ± 12,6	--	90,8 ± 15,0
IMC ($kg.m^{-2}$)	23,1 ± 3,5	25,2 ± 4,3	24,2 ± 3,3	23,6 ± 2,4	23,1 ± 1,8	23,3 ± 2,0	24,7 ± 3,2	--	30,6 ± 1,4
Masse grasse (%)	19,9 ± 6,0	13,6 ± 7,4	12,4 ± 8,1	9,7 ± 3,8	10,5 ± 4,0	--	--	--	36,5 ± 5,5
Entraîn. Ap (années)	7,3 ± 5,6	6,4 ± 4,4	--	14,8 ± 11,0	--	14,0 ± 11,7	19,2 ± 11,0	--	--
Entraîn. Ap ($h.sem^{-1}$)	3.8 ± 1,1	3,7 ± 1,1	--	4,5 ± 2,3	--	--	--	--	--
RP Ap statique (s)	316 ± 40	303,0 ± 61,7	--	361,5 ± 79,7	--	--	--	--	--
RP Ap dynamique (m)	131,2 ± 30,0	114,5 ± 40,2	--	153,3 ± 41,7	--	--	--	--	--
Syncopes* (nombre)	--	--	--	--	--	2,4 ± 1,4	Ø	Ø	--

Moyenne ± Écart-type. RP, record personnel ; Ap, Apnée ; IMC, indice de masse corporelle ; H, homme ; F, femme, entraîn., entraînement. *nombre d'épisodes syncopaux au cours des deux dernières années précédant l'expérimentation

II.2 Protocoles expérimentaux

II.2.1 Étude 1 : projets PhysioFlow (1a) / BradyModeling (1b)

Mis en place au cours de l'année 2012, ce protocole expérimental a donné naissance à deux projets complémentaires : le projet PhysioFlow et le Projet BradyModeling. Les expérimentations ont été réalisées au sein des complexes aquatiques Guy Boissière et Alex Jany, situés respectivement à Rouen (île Lacroix) et Grand-Couronne. Lors de cette première étude, il a été demandé à un groupe composé de 11 apnéistes d'accomplir deux apnées statiques maximales dans deux conditions expérimentales différentes selon un ordre bien défini. La première partie du protocole expérimental comprenait la réalisation d'une apnée maximale alors que les sujets étaient confortablement allongés sur un matelas en *décubitus dorsal* (**figures 27a et 27b**). Puis, il était demandé aux apnéistes d'effectuer une seconde apnée en immersion (tête immergée) à la surface de l'eau (**figures 27a' et 27b'**).

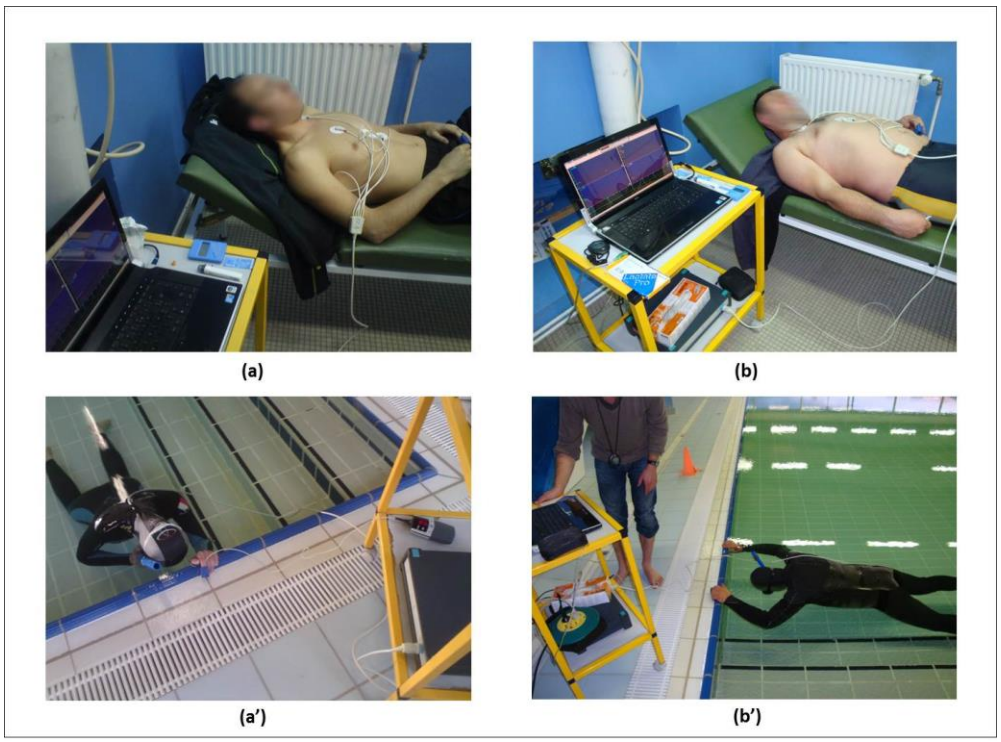


Figure 27 : Photos illustrant l'enregistrement des paramètres hémodynamiques au cours d'apnées à l'air libre (a, b) et en immersion à la surface de l'eau (a', b') chez deux apnéistes.

Le déroulement du protocole est présenté ci-dessous (**figure 28**).

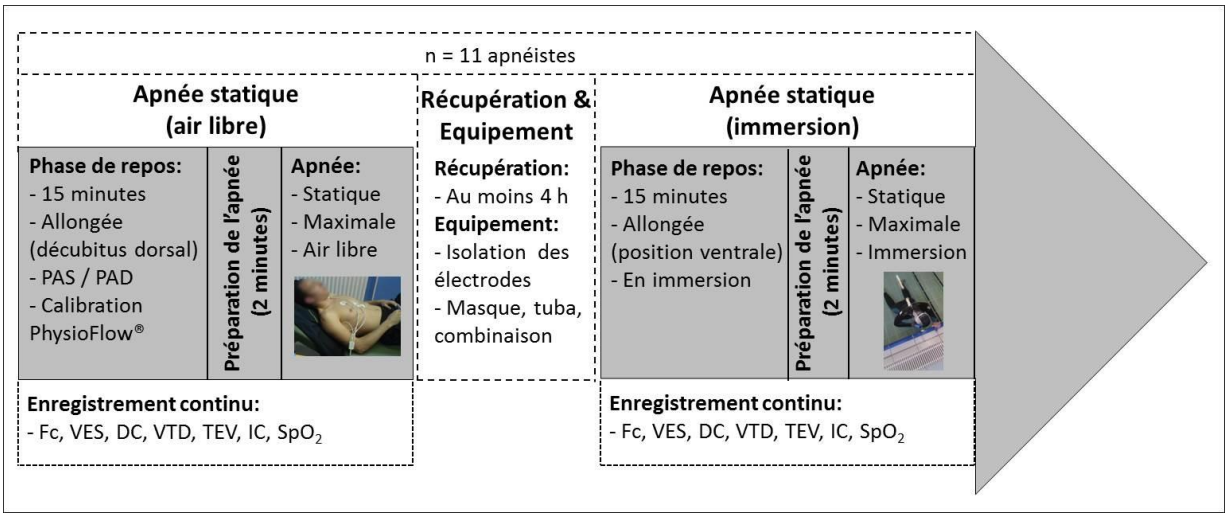


Figure 28 : Schéma récapitulant les principales étapes du protocole expérimental PhysioFlow. PAS, pression artérielle systolique ; PAD, pression artérielle diastolique. Fc, fréquence cardiaque, VES, volume d'éjection systolique, DC, débit cardiaque, VTD, volume télédiastolique, TEV, temps d'éjection ventriculaire, SpO_2, saturation périphérique en oxygène

Réalisées le même jour, les deux apnées étaient néanmoins espacées d'une période de récupération d'au moins 4 heures, minimisant ainsi l'éventuelle influence de la première apnée sur les paramètres hémodynamiques de la seconde. Chaque apnée était précédée d'une période de repos de 15 minutes. À leur arrivée, les sujets étaient équipés d'un impédancemètre thoracique (PhysioFLow®) et d'un saturomètre artériel (PalmSat 2500®). Les pressions systoliques et diastoliques étaient mesurées pour finaliser la calibration du PhysioFlow®. Une période de repos de 15 minutes était alors demandée à chaque sujet afin d'enregistrer les paramètres hémodynamiques de repos. Puis, pendant la phase préparatoire de l'apnée, les participants suivaient un compte à rebours similaire aux compétitions d'apnée, i.e. les temps étaient annoncés de vive voix selon le décompte suivant : 120 s, 90 s, 30 s, puis chaque seconde à partir des 10 dernières secondes avant l'apnée. Soulignons que toute manœuvre hyperventilatoire était proscrite pendant la phase préparatoire de l'apnée, réduisant ainsi les chances d'apparition d'une syncope anoxique. Après 2 min 30 s d'apnée, les apnéistes étaient informés oralement de leur temps d'apnée toutes les 30 secondes. Après la première apnée et avant toute immersion dans le bassin, les sujets étaient équipés d'une combinaison de plongée monopièce, d'un masque et d'un tuba. Lors de la seconde phase de

repos en immersion, il était demandé aux apnéistes d'adopter une position ventrale, tête immergée, tout en respirant le plus naturellement possible à travers le tuba. Ces conditions réunies, les paramètres hémodynamiques de repos en immersion étaient alors de nouveau enregistrés avant la réalisation de la seconde apnée. Les températures de l'eau et de l'air ambiant étaient respectivement de 27°C et 26°C.

II.2.2 Étude 2 : projet FreeHypox

Ces expérimentations ont été menées à la Faculté des Sciences du Sport de l'Université de Rouen (laboratoire CETAPS) de janvier 2013 à février 2014. Le but de cette étude était de comparer les adaptations hémodynamiques (cardiaques et périphériques) entre des apnéistes et une population témoin lors d'une hypoxémie induite par l'apnée dynamique (à l'effort). Le protocole FreeHypox comprenait deux phases :

- La mesure des caractéristiques anthropométriques et l'estimation du pic de puissance maximale (PPM) de chaque sujet.
- La réalisation d'une apnée dynamique maximale avec immersion de la face à 30 % du PPM.

Après recueil des caractéristiques anthropométriques, le premier objectif de cette étude était d'estimer, pour chacun des 16 sujets, l'intensité de pédalage correspondant approximativement à 30% du PPM (**figure 29**). Cette intensité, propre à chaque participant, était ultérieurement utilisée comme charge de pédalage pendant l'apnée dynamique. Pour cela, nous avions choisi d'utiliser une méthode d'estimation indirecte du $\dot{V}O_{2max}$ sur cycloergomètre (test d'Astrand-Ryhming). Ce test s'appuie sur la relation linéaire entre la Fc et la consommation d'O_2 pendant l'exercice sous-maximal (Åstrand et Ryhming 1954). Brièvement, l'épreuve consistait à faire pédaler le sujet (60 ± 10 rpm) pendant 5 à 6 minutes à une puissance constante (2 à 3 $W.kg^{-1}$) afin d'obtenir une Fc stable comprise entre 120 et 170 bpm. La Fc enregistrée à la fin du test nous permettait d'obtenir une estimation du $\dot{V}O_{2max}$ grâce au nomogramme modifié d'Astrand (Astrand 1960). À partir de l'estimation du $\dot{V}O_{2max}$ de chaque participant, le PPM était ensuite calculé à partir de la relation mathématique entre le $\dot{V}O_{2max}$ exprimé en valeur absolu et le PPM (Hawley et Noakes 1992) :

$$PPM\ (W) = \frac{\dot{V}O_{2max} - 0{,}435}{0{,}01141}$$

La charge de pédalage imposée pendant l'apnée dynamique, correspondante à 30% du PPM ($PPM_{30\%}$), était alors estimée de la façon suivante :

$$PPM_{30\%}(W) = 0{,}3 \cdot \left(\frac{\dot{V}O_{2max} - 0{,}435}{0{,}01141}\right)$$

La première phase du protocole (recueil des données anthropométriques et test d'Astrand-Ryhming) de la seconde (apnée dynamique maximale) était espacée pour chaque sujet d'au moins 24 heures de récupération.

Lors de la seconde phase du protocole (**figure 29**), les participants étaient au préalable équipés d'un spectrophotomètre proche infrarouge (Portamon®), d'un impédancemètre thoracique (PhysioFlow®) et d'un saturomètre artériel (PalmSat 2500®). Une période de repos de 10 minutes en position assise sur le cycloergomètre était ensuite accordée à chaque sujet durant laquelle la calibration du PhysioFlow était effectuée. À la fin de cette période, 5 µl de sang était prélevé pour l'analyse des lactates. Puis, pendant la phase préparatoire de l'apnée, les participants suivaient un compte à rebours similaire à celui à notre première étude (Projet PhysioFlow). Les temps étaient ainsi annoncés de vive voix selon le décompte suivant : 120 s, 90 s, 30 s, puis chaque seconde à partir des 10 dernières secondes avant l'apnée dynamique. En début d'apnée, il était demandé aux sujets de se pencher (flexion antérieure du buste) afin qu'ils immergent leur visage dans une bassine d'eau froide (16,4 ± 1,6°C) située au-dessus du cycloergomètre. Simultanément, les sujets commençaient à pédaler à une fréquence de pédalage de 60 rpm. Un opérateur était spécifiquement chargé de réguler la fréquence de pédalage. À la fin de l'apnée, une période de récupération de 10 minutes était accordée durant laquelle les lactates étaient de nouveau prélevés (+3 minutes).

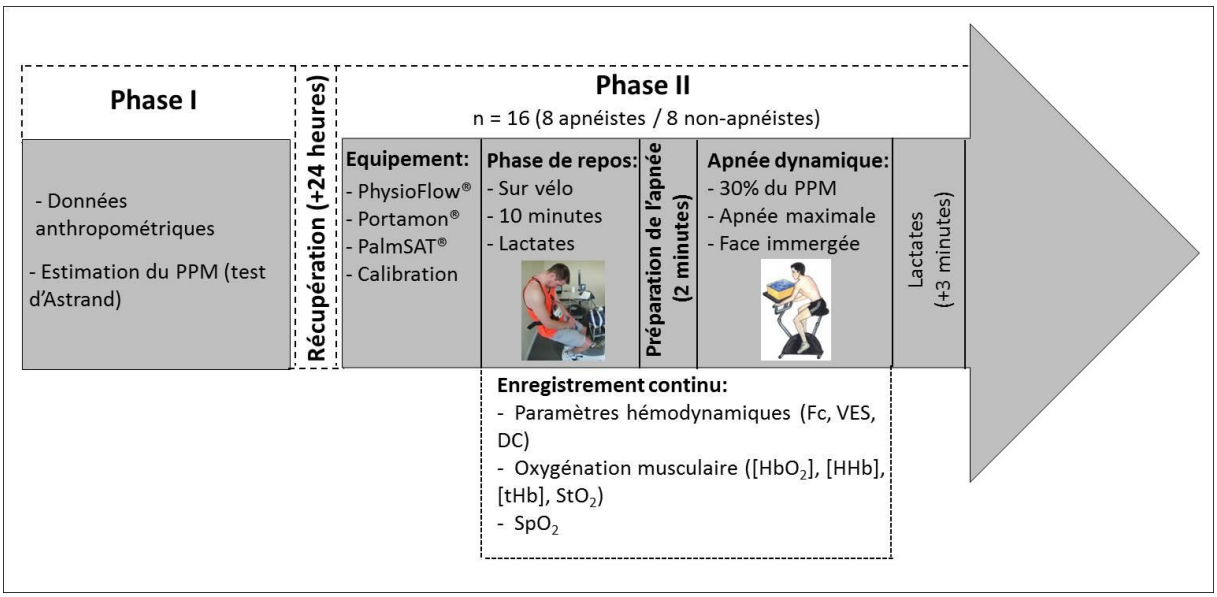


Figure 29 : Schéma récapitulant les principales étapes du protocole expérimental FreeHypox.

II.2.3 Étude 3 : projet CarbOxy

Les expérimentations du projet CarbOxy ont eu lieu au sein du laboratoire « Réponses cellulaires et fonctionnelles à l'hypoxie » en juin 2012 (Université Paris XIII, Bobigny). L'objectif de ce projet était de comparer les réponses cardio-ventilatoires à l'hypoxie et à l'hypercapnie entre une population d'apnéistes et de non-apnéistes. Pour cela, nous avons utilisé le test en hypoxie de « Richalet » (**figures 30a et 30a'**) (Lhuissier et coll. 2012) et le test de réinspiration au gaz carbonique de « Read » (**figures 30b et 30b'**) (Read 1967). Pour un individu donné, les deux tests étaient espacés d'au moins 24 heures de récupération.

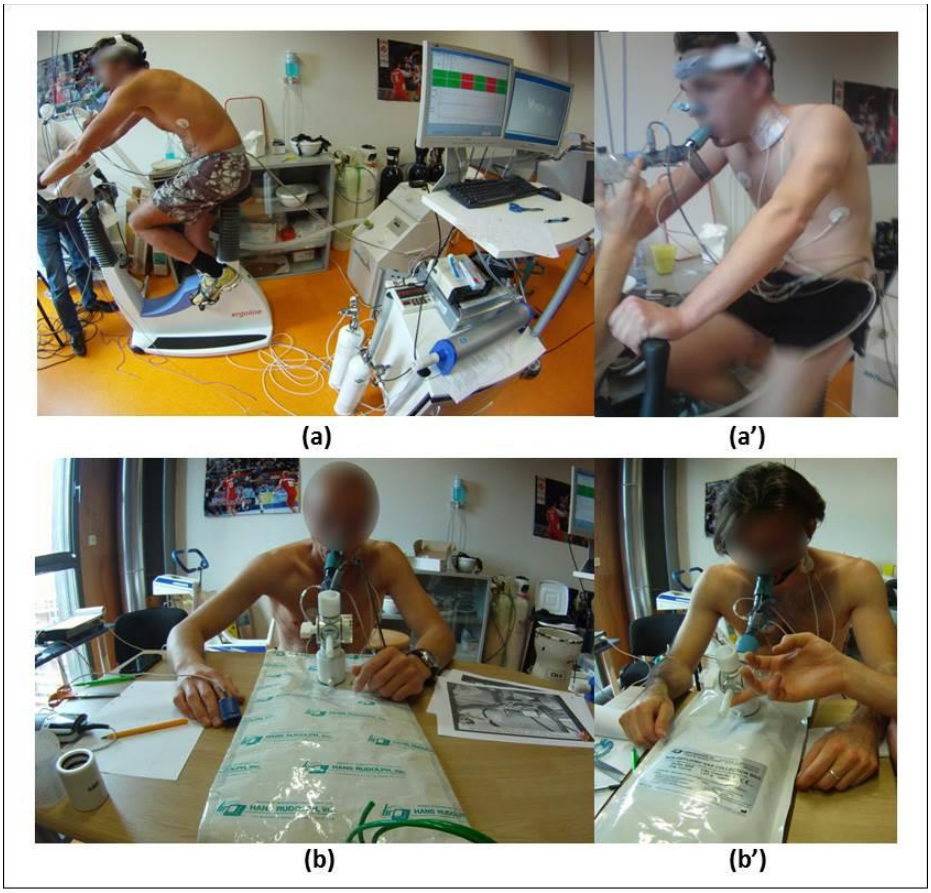


Figure 30 : Enregistrement des paramètres cardio-ventilatoires lors du test en hypoxie de « Richalet » (a, a') et du test de réinspiration au gaz carbonique de « Read » (b, b').

II.2.4 Étude 4 : projet Adéno

Les expérimentations du projet Adéno ont eu lieu à Nice pendant les championnats du monde d'apnée (septembre 2012). L'objectif de ce projet était de comparer les concentrations plasmatiques en adénosine (CPA) avant, pendant et après une apnée chez des apnéistes ayant déjà subi une PCB et des apnéistes n'ayant jamais eu de PCB. 20 apnéistes internationaux

participant à ce championnat ont été recrutés dans le cadre de cette étude (19 hommes / 1 femme). Parmi ces apnéistes, 11 avaient déjà eu au moins un épisode syncopal au cours des deux années précédant l'expérimentation (groupe apnéiste avec PCB) et 9 n'avaient jamais eu d'épisode syncopal (groupe apnéiste sans PCB). De plus, 10 sujets témoins sains (non-apnéistes) ont été recrutés parmi les membres de l'équipe de recherche et du staff médical afin de servir de contrôle pour le dosage de la CPA.

Après le recueil des données anthropométriques, les apnéistes étaient allongés en décubitus dorsal sur un matelas. Ces derniers étaient équipés d'un Holter (ECG 6 pistes) et d'un saturomètre artériel attaché au niveau du majeur (Palm Sat 2500®). Enfin, un cathéter intraveineux était posé au niveau de l'avant-bras pour le prélèvement des échantillons sanguins (**figure 31**).

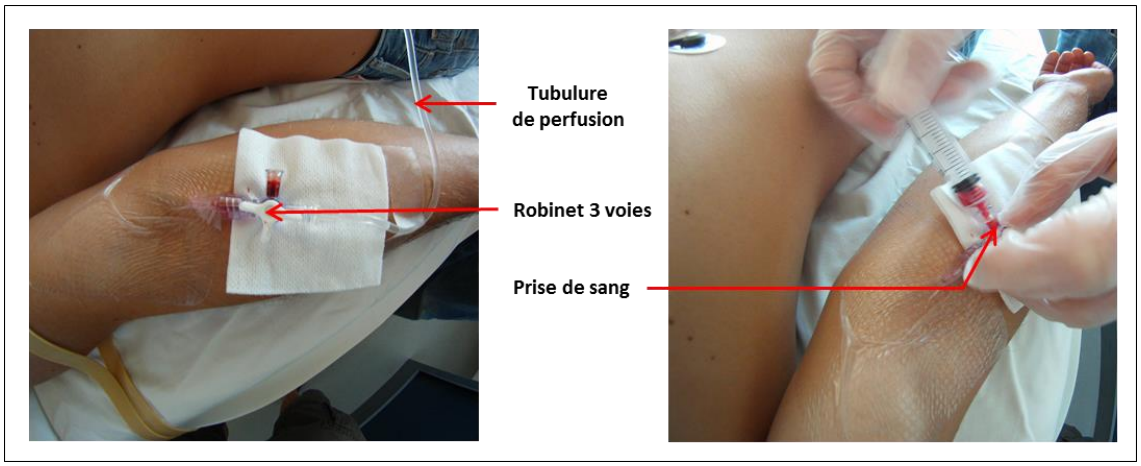


Figure 31 : Installation du cathéter intraveineux sur l'avant-bras d'un apnéiste pour la prise de sang.

Après une période de relaxation de 10 minutes, un premier prélèvement sanguin était effectué ainsi qu'un enregistrement de la Fc et de la SpO_2 de repos (T0). Il était ensuite demandé aux apnéistes un échauffement qui comprenait la réalisation de 5 apnées de courte durée, chacune d'entre elles étant séparée par 5 minutes de récupération. Cet échauffement permettait de réduire les éventuels effets liés au stress et de renforcer les manifestations cardio-vasculaires du réflexe de plongée en vue de l'apnée expérimentale. Après cette période d'échauffement, les apnéistes effectuaient une apnée statique sous-maximale confortablement allongés sur le matelas (**figure 32**).

Figure 32 : Exemple d'un sujet réalisant une apnée statique sous-maximale.

Les échantillons sanguins (veineux), la Fc et la SpO_2 étaient recueillis à la fin de cette apnée sous-maximale (T1) puis à la fin des 10 minutes de récupération (T2). Les sujets témoins n'ont pas effectué d'apnée. Seul un prélèvement sanguin était réalisé sur ce groupe pour une analyse ultérieure de la CPA. Les échantillons sanguins étaient transportés dans de la glace carbonique (Carboglace™) entre le lieu de la compétition et le laboratoire d'analyse. À leur arrivée, les échantillons étaient conservés à -80°C. Le déroulement de l'expérimentation est présenté dans la figure ci-dessous (**figure 33**).

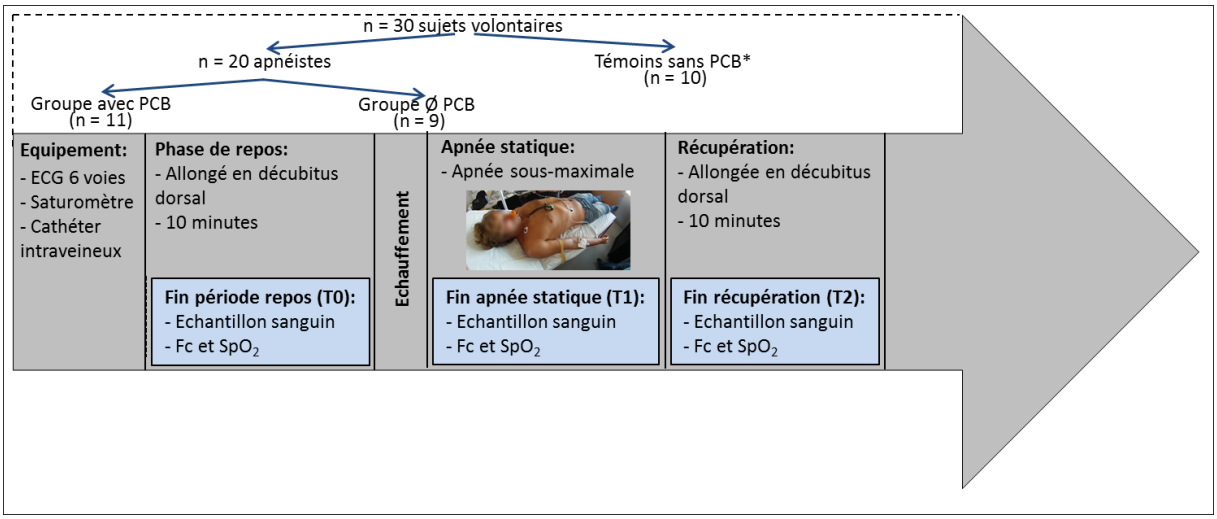


Figure 33 : Schéma récapitulant les principales étapes du protocole expérimental Adéno. *Les sujets du groupe témoin n'ont pas réalisé d'apnées.

II.2.5 Étude 5 : projet IHE

Les expérimentations du projet IHE ont eu lieu au sein du laboratoire de la *School of Allied Health Sciences* de l'Université Griffith (Gold Coast, Queensland, Australie), situé à 13

mètres au-dessus du niveau de la mer. Le principal objectif de ce projet était d'étudier les effets d'un programme passif en HI (normobarique) sur les principaux facteurs de risques cardio-métaboliques chez des personnes obèses ou en surpoids. Le déroulement du protocole est présenté dans la **figure 34**.

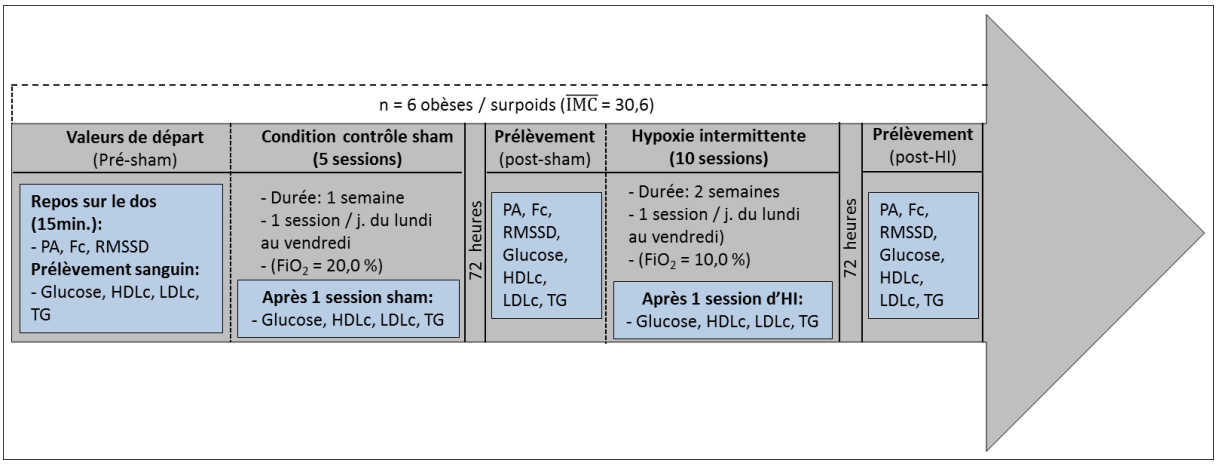


Figure 34 : Schéma récapitulant les principales étapes du protocole expérimental IHE. Dans cette expérimentation, les sujets sont leur propre contrôle (*sham*).

Les volontaires suivaient un protocole de 3 semaines comprenant deux phases principales établies selon un ordre bien défini :

- **Semaine 1 (SHAM)** : 5 séances consécutives (du lundi au vendredi) de 2 heures. Confortablement assis, les participants alternaient des périodes où ils respiraient l'air ambiant (sans porter de masque, FiO_2 = 20,9%) avec des périodes durant lesquelles ils respiraient un mélange gazeux, représentatif d'une très faible altitude (FiO_2 = 20,0% ; ~450 mètres d'altitude). Les sujets n'avaient pas connaissance de l'altitude à laquelle ils étaient exposés.
- **Semaine 2 et 3 (IHE)** : 5 séances par semaine (du lundi au vendredi) d'HI pendant 2 heures. Les sujets alternaient des périodes où ils respiraient l'air ambiant (sans porter de masque, FiO_2 = 20,9%, **figure 36a**) avec des périodes durant lesquelles ils respiraient un mélange gazeux hypoxique délivré par l'ATS-HP (**figure 35**), équivalent d'une exposition en très haute altitude (FiO_2 = 10% ; ~6000 mètres d'altitude, **figure 36b**).

Figure 35 : *Hypoxicator* (ATS-HP, Pulford Air & Gas Pty Ltd, Australie) utilisé pour produire l'hypoxie normobarique. Celui-ci offre un vaste éventail de FiO_2 grâce à un système de membrane semi-perméable qui filtre l'O_2 de l'air ambiant.

Figure 36 : Sujet passant d'une phase normoxique (a) avec une phase hypoxique (b) pendant une session d'IHE.

Le principal objectif était d'obtenir en fin de séance une SpO_2 moyenne d'environ 80% pour chacun des participants (**figure 37**). Pour cela, les sujets respiraient le mélange gazeux hypoxique jusqu'à atteindre une SpO_2 de 70% (phase hypoxique), puis retiraient le masque jusqu'à revenir à une SpO_2 > 95% (phase de réoxygénation). Ces cycles d'hypoxie-réoxygénation étaient répétés jusqu'à atteindre un temps d'exposition à l'hypoxie compris entre 70 et 75 minutes.

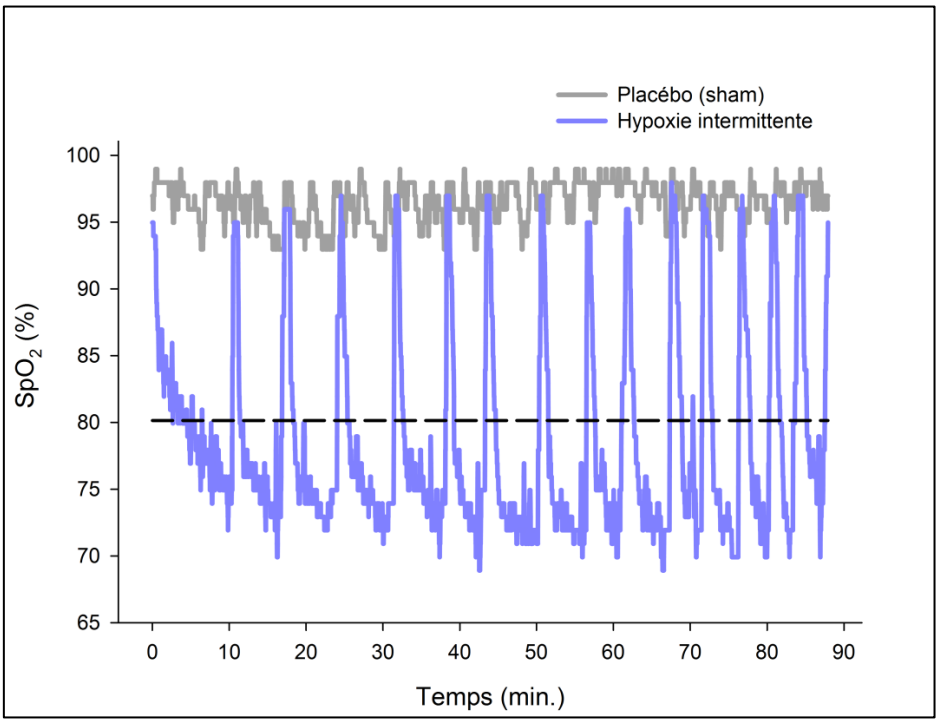


Figure 37 : Cinétiques de la SpO_2 lors d'une séance *sham* (FiO_2 = 20,9%) et d'une séance en hypoxie intermittente (FiO_2 = 10%) chez un sujet ayant participé au projet IHE. La ligne verticale en pointillé représente la moyenne de la SpO_2 calculée sur la totalité des cycles d'hypoxie-réoxygénation de la séance.

Cette exposition a été choisie car elle garantissait, temps de prélèvement des échantillons inclus, une séance dont la durée n'excédait pas 2 heures. Les échantillons sanguins étaient collectés avant et après la première session (*sham* et HI), 72 heures après les 5 séances *sham* et 72 heures après les 10 séances d'HI (**figure 34**). Les pressions artérielles (systolique et diastolique), la Fc et les RMSSD étaient enregistrés pendant une période de 15 minutes. Pour cela, les sujets étaient préalablement équipés du Finometer Pro® puis allongés en *décubitus dorsal* sur un matelas dans un environnement calme, lumières éteintes. Pour toutes les séances, les participants étaient équipés d'un ECG 3 pistes en présence d'un médecin pour superviser les séances d'HI.

II.3 Variables physiologiques mesurées

II.3.1 Paramètres hémodynamiques

II.3.1.1 *Impédancemétrie thoracique (études 1, 2, 3)*

Les premiers travaux s'intéressant à la mesure continue des paramètres hémodynamiques par analyse des variations d'impédance thoracique (dZ) pendant le cycle cardiaque remontent à plus de quarante ans (Kubicek et coll. 1966). Cette technique permet d'enregistrer les variations de volume sanguin en mesurant l'évolution de l'impédance au cours du temps (dérivée de dZ en fonction du temps dZ/ dt) de la cavité thoracique lors de la révolution cardiaque. Le principe fondamental de la bio-impédance repose sur une généralisation de la loi d'Ohm. Si un courant électrique alternatif est appliqué au thorax, alors les changements de tension (différence de potentiel) sont directement proportionnels aux variations de dZ (Sodolski and Kutarski 2007). Par ailleurs, le courant empreinte toujours la voie opposant la plus faible résistance (i.e. le sang chez l'homme), dZ représentera par conséquent systématiquement les fluctuations du volume sanguin aortique (Cotter et coll. 2004).

Les paramètres hémodynamiques tels que le débit cardiaque (DC) et le volume d'éjection systolique (VES) ont été calculés grâce au bio-impédancemètre thoracique PhysioFlow® PF-05 (Manatec Bio-medical, Macheren, France) (**figure 38**).

Figure 38 : PhysioFlow PF-05®.

Cet appareil est désormais fréquemment utilisé pour l'évaluation du statut hémodynamique au repos et à l'exercice. Plusieurs études ont démontré des corrélations avec la méthode directe de Fick au repos (r = 0,89 ; p < 0,01), lors de l'exercice sous-maximal (r = 0,85 ; p < 0,001) et de l'exercice maximal (r = 0,94 ; p < 0,01) (Charloux et coll. 2000; Tordi et coll. 2004; Welsman et coll. 2005; Tonelli et coll. 2011; Myers et coll. 2013). D'autres études s'intéressant à la validation de l'appareil ont cependant montré des résultats

plus nuancés pour son utilisation dans un contexte clinique (Bogui et coll. 2013; Siebenmann et coll. 2014), notamment en cas de faibles VES (Kemps et coll. 2008).

Le sujet est connecté à l'appareil au moyen de 6 électrodes (**figure 39**) : 2 électrodes assurant la mesure du tracé ECG et 2 couples d'électrodes, l'un au niveau de l'appendice xiphoïde et l'autre à la base du cou, servant à l'émission et à la réception du signal d'impédance, d'une intensité de 2,7 mA et d'une fréquence de 75 KHz. Après une phase de calibration de 30 battements cardiaques, le DC est alors calculé (battement par battement) en multipliant le volume d'éjection systolique indexé (VESi) par la surface corporelle (SC) et la Fc, obtenue à partir des espaces R-R de la première dérivée mathématique du signal ECG :

$$DC = Fc \cdot VESi \cdot SC$$

Avec DC en L.min^{-1} ; Fc en bpm ; $VESi$ le du volume d'éjection systolique indexé en ml.m^{-2} ; SC la surface corporelle en m^{-2} (formule de Haycock : $SC = 0{,}024265 \cdot MC^{0{,}5378} \cdot T^{0{,}3964}$, où MC est la masse corporelle du sujet en Kg et T la taille en cm) [cf. **annexe 1** pour plus de détails sur le calcul du VESi].

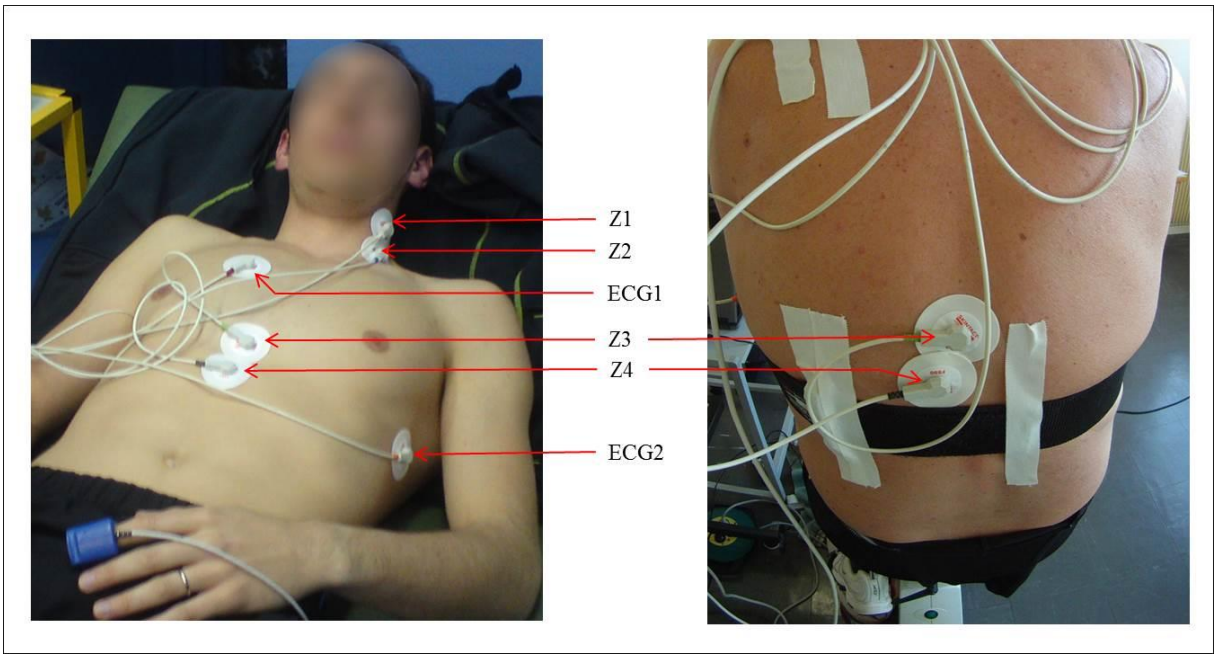


Figure 39 : Placement des électrodes du PhysioFlow® au cours d'un enregistrement au repos (photo de gauche) et lors de l'exercice (photo de droite) : Z1 et Z3 = électrodes émettrices, Z2 et Z4 = électrodes réceptrices, ECG1 et ECG2 = dérivation de l'électrocardiogramme.

Le volume télédiastolique (VTD, i.e. VES / fraction d'éjection[11]), le temps d'éjection ventriculaire (TEV), l'indice de contractilité (IC) ainsi que le taux moyen d'éjection systolique (MSER = VES/TEV) ont également été enregistrés (**étude 1a**, cf. **annexe 1**). Avant de procéder à l'enregistrement, une vérification du tracé d'impédance était systématiquement effectuée d'après les recommandations des développeurs de l'appareil, car celui-ci joue un rôle crucial sur la fiabilité des données estimées (critère du *drums and saxophone*, **figure 40**) (Bour 2012). Par rapport à d'autres impédancemètres thoraciques plus anciens, l'algorithme de cet appareil ne nécessite pas calcul de l'impédance « de base », dont la détermination était très souvent une source d'erreurs.

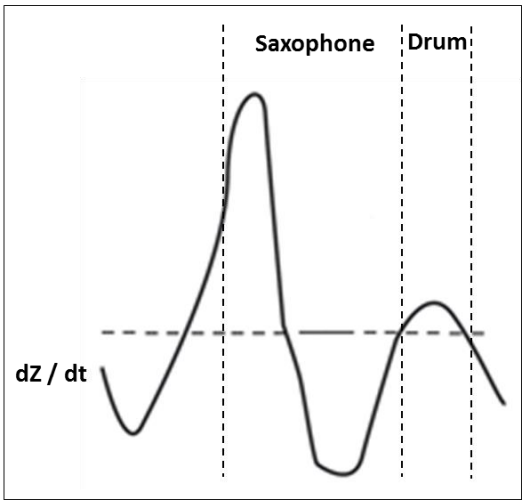


Figure 40 : Critère du *drums and saxophone* obtenu à partir de la première dérivée du signal d'impédance (*dZ/dt*). Selon les développeurs du PhysioFlow®, ce tracé garantit un enregistrement fiable et précis des paramètres hémodynamiques.

II.3.1.2 *Précautions liées à l'immersion (études 1a, 1b)*

L'enregistrement des paramètres hémodynamiques pendant l'apnée en immersion est le fruit d'une étroite collaboration avec les développeurs du PhysioFLow. Cet appareil n'a en effet pas été conçu pour une utilisation dans ce type d'environnement.

Une attention particulière a ainsi été accordée à l'isolation des électrodes du milieu aquatique. Après rasage et application d'une pâte semi-abrasive sur la peau (Reegaponce, Bussy Saint-Georges, France), chacune des 6 électrodes était isolée du milieu aquatique au moyen d'un film de polyuréthane transparent imperméable aux liquides (pansement Tegaderm 3M™). En sus, les sujets étaient équipés d'une combinaison de plongée monopièce

[11] Le physioFlow® estime la fraction d'éjection à partir de la formule de Capan (Capan *et coll.* 1987) : FE (%) = 0,84 – 0,64 * (période de pré-éjection) / TEV).

afin de garantir des conditions optimales d'isolation tout au long de l'acquisition des données. Avant de commencer l'expérimentation, la qualité du signal d'impédance avait été vérifiée lors d'un pré-test sur un sujet en condition réelle d'immersion et aucun problème d'étanchéité n'avait pu être détecté au niveau des électrodes et du signal d'impédance (respect du critère du *drums and saxophone*). À l'heure actuelle, seuls quelques travaux ont utilisé l'impédancemétrie thoracique pour des enregistrements en immersion et ces derniers ont obtenu des résultats encourageants (Shiraki et coll. 1986; Mourot et coll. 2007; Mourot et coll. 2008).

II.3.1.3 *Extraction des intervalles R-R (étude 1b)*

Dans le but d'analyser la variabilité de la fréquence cardiaque (VFC), les intervalles R-R enregistrés au cours des apnées ont été extraits de l'ECG 2 pistes (Texas instrument) du PhysioFlow®. Ce dernier possède une fréquence d'échantillonnage de 250 Hertz. Bien que l'appareil n'ait pas été pensé pour ce type d'analyse, cette fréquence d'échantillonnage fait partie des normes basses pour une analyse ultérieure de la VFC (Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology 1996). L'extraction des intervalles R-R a fait l'objet d'un travail de pair avec les développeurs du PhysioFlow.

Brièvement, un ensemble de routines Matlab fourni par les développeurs du PhysioFlow® nous ont permis d'extraire le signal ECG brut à partir des fichiers sources de l'appareil (*.PFS). Les ondes R ont ensuite été extraites de ce signal brut grâce au logiciel Kubios HRV 2.1 (Biomedical Signal Analysis Group, Department of Applied Physics, University of Kuopio, Finland). Ce logiciel s'appuie sur l'utilisation d'un filtre digital selon l'approche de Pan-Tompkins (Pan et Tompkins 1985), un algorithme de référence dans la détection des ondes R (Tarvainen et coll. 2013). Notons qu'il aurait été possible de récupérer les intervalles R-R beaucoup plus rapidement en nous appuyant sur le logiciel fourni avec le PhysioFlow® qui permet un re-échantillonnage des données battement par battement. Cette méthode d'extraction a toutefois été écartée car le logiciel opère la détection des ondes R à partir de la dérivée première du signal ECG et non du signal ECG brut, ce qui aurait pu entraîner des erreurs dans la détection des intervalles R-R.

II.3.2 Oxygénation de la microcirculation musculaire (étude 2)

La spectroscopie dans le proche infrarouge (NIRS, *Near-InfraRed Spectroscopy*) a été employée pour l'estimation en continu du degré d'oxygénation de la microcirculation (artérioles, capillaires et veinules) du vaste latéral dans le cadre du projet *Freehypox*. Le caractère non invasif de la NIRS et sa portabilité en font, de nos jours, l'outil d'investigation scientifique privilégié dans l'exploration du métabolisme oxydatif musculaire lors de l'exercice (Ferrari et coll. 2011; Hamaoka 2013). L'appareil que nous avons utilisé comprend un photorécepteur et 3 optodes émettrices disposées dans le même axe, chacune d'elles émettant deux longueurs d'onde (Portamon®, Artinis Medical Technologies, BV, Pays-Bas) (**figure 41**). Avant d'équiper le sujet du Portamon®, une mesure du pli cutané était faite au niveau du vaste latéral (côté droit) grâce à une pince Harpenden (Holtain Ltd, Crosswell, Royaume-Uni). La mesure fournie par la pince, divisée par deux, donne une estimation de l'épaisseur du tissu adipeux sous-cutané (van Beekvelt et coll. 2001a). Le spectrophotomètre était ensuite placé sur le corps du vaste latéral droit, enveloppé dans un tissu noir par de l'élastoplaste et un strap adhésif afin de prévenir une contamination de la NIRS provenant de la lumière ambiante (**figure 41**).

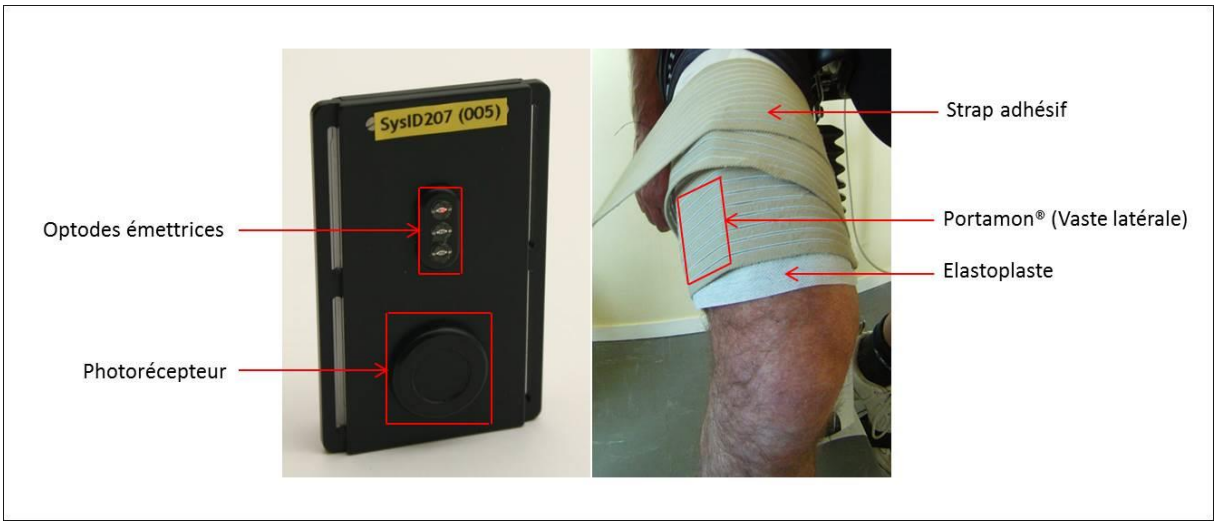


Figure 41 : Portamon® et son placement au niveau du vaste latéral droit.

Brièvement, la NIRS permet d'estimer, à travers l'émission de deux faisceaux de longueurs d'onde avoisinantes (± 850 nm et ± 760 nm), les concentrations d'oxyhémoglobine

([HbO_2]) et de désoxyhémoglobine ([HHb]) *via* la loi de Beer-Lambert modifiée[12] (Rolfe 2000). Les concentrations de ces deux chromophores sont ensuite dérivées pour le calcul en temps réel de l'hémoglobine totale ([tHb] = [HbO_2] + [HHb]). Enfin, la configuration spatiale des 3 optodes respectivement placées à 3 cm, 3,5 cm et 4 cm du photorécepteur autorise une estimation en pourcentage de la saturation tissulaire en oxygène (StO_2) sur une profondeur d'environ 1,5 cm à 2 cm (Cui et coll. 1991), selon la formule suivante :

$$StO_2(\%) = 100 \cdot \frac{[HbO_2]}{[HbO_2] + [HHb]}$$

[HHb] est considéré comme le paramètre le plus fiable quantifiant l'extraction d'O_2 au niveau tissulaire, car celui-ci semble moins sensible aux fluctuations du débit sanguin régional, ce qui n'est pas le cas pour [HbO_2] (Van Beekvelt et coll. 2001b; Grassi et coll. 2003; Ferreira et coll. 2007). Notons également que la contribution de l'oxymyoglobine et de la désoxymyoglobine au signal de la NIRS reste controversée. Une étude récente estime en effet que la myoglobine participerait à plus de 50 % de la NIRS chez l'être humain (Davis et Barstow 2013). Par conséquent, les termes [HHb], [HbO_2] et [tHb] feront systématiquement référence à la somme des concentrations en hémoglobine et myoglobine. La fréquence d'échantillonnage était de 10 hertz avec un facteur de chemin optique différentiel fixé à 4 permettant de prendre en compte la dispersion des photons propre au tissu traversé. Ces valeurs ont été choisies à partir des données que la littérature recommande pour l'étude du vaste latéral (Matcher et coll. 1995; de Ruiter et coll. 2005; Kawaguchi et coll. 2006).

II.3.3 Lactatémie (études 3, 5)

Lors du projet FreeHypox, les concentrations artérielles en lactate ont été dosées par ampérométrie (Lactate Pro™, LP, Arkray KDK, Japon, **figure 42a**) après un prélèvement sanguin de 5µL au niveau du doigt. Quant au projet IHE plus récent, nous avons utilisé le Lactate Pro 2™ (**figure 42b**), plus rapide dans l'analyse (15 s vs. 60 s) et ne nécessitant pas de calibration préalable, contrairement à son prédécesseur. La comparaison de ces deux appareils de terrains à des appareils de référence utilisés en laboratoire (e.g. Radiometer ABL 700) ont abouti à des résultats concluants (Tanner et coll. 2010; Whyte et coll. 2014). En revanche, une comparaison directe entre les deux appareils a révélé le lactate Pro 2™ serait néanmoins plus

[12] Loi de Beer-Lambert : la concentration d'une entité chimique est proportionnelle à la longueur du trajet parcouru par la lumière du milieu et à l'absorbance de ce même milieu. Sa version modifiée prend en compte la diffusion du milieu, phénomène inhérent à tout type de tissu biologique.

précis (biais plus faible) que le lactate Pro 1™ lorsque les concentrations en lactate dépassent 15 mmol.L^{-1} (Bonaventura et coll. 2015).

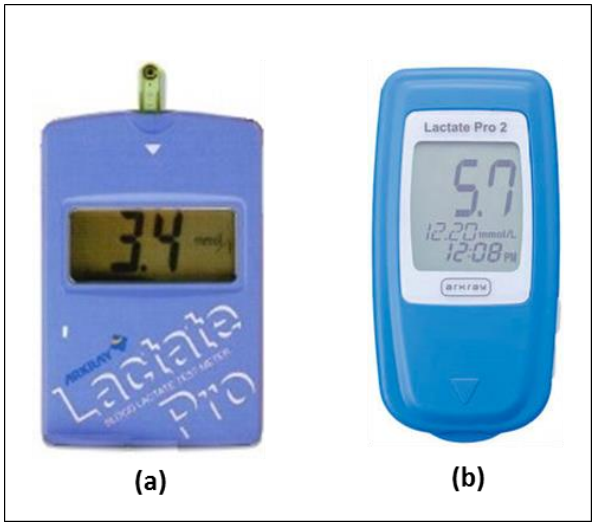


Figure 42 : Lactate Pro™ (a) et Lactate Pro 2™ (b).

II.3.4 Saturation périphérique en oxygène (études 1, 2, 3, 4,5)

Pendant les apnées, la saturation périphérique en oxygène (SpO_2) était estimée à partir d'un oxymètre de Pouls (Palm-SAT 2500, Nonin Medical, Inc., USA) intégrant une fréquence d'acquisition de 0,25 Hz (valeurs moyennées toutes les 4 secondes, **figure 43a)**. Dans le cadre du projet IHE plus récent, un autre modèle d'oxymètre de pouls a été utilisé pour l'enregistrement de la SpO_2 (CMS60D, Contec TM, Qinhuangdao, chine, **figure 43b**), ce dernier intégrant une fréquence d'acquisition de 1 Hz (valeurs moyennées toutes les secondes).

Figure 43 : PalmSat 2500® (a) et Contec CMS60D (b).

II.3.5 Réponses cardio-ventilatoires à l'hypoxie et à l'hypercapnie (étude 3)

II.3.5.1 *Test en altitude simulée de « Richalet » (étude 3)*

Les réponses ventilatoires à l'hypoxie poïkilocapnique ont été évaluées au repos et à l'exercice grâce au test hypoxique de « Richalet » (Brugniaux et coll. 2006; Richalet et coll. 2009; Lhuissier et coll. 2012). S'appuyant sur des travaux initiés par Weil *et coll.* (Weil et coll. 1970), ce test en altitude simulée consiste à explorer au repos et à l'exercice la chémosensibilité des récepteurs carotidiens par inhalation d'un mélange gazeux appauvri en O_2 équivalant à une altitude de 4800 mètres (hypoxie normobarique ; F_iO_2 = 11,5 %). Le test se compose de 5 phases consécutives d'une durée de 3 à 5 minutes chacune (**figure 44**) : une phase de repos en normoxie (RN), une phase de repos en hypoxie (RH), une phase d'exercice en hypoxie (EH), une phase d'exercice en normoxie (EN). La 5e et dernière phase est similaire à la 4e phase à laquelle est ajoutée une augmentation progressive de la charge de pédalage dans le but d'atteindre une Fc similaire à EH (EN2).

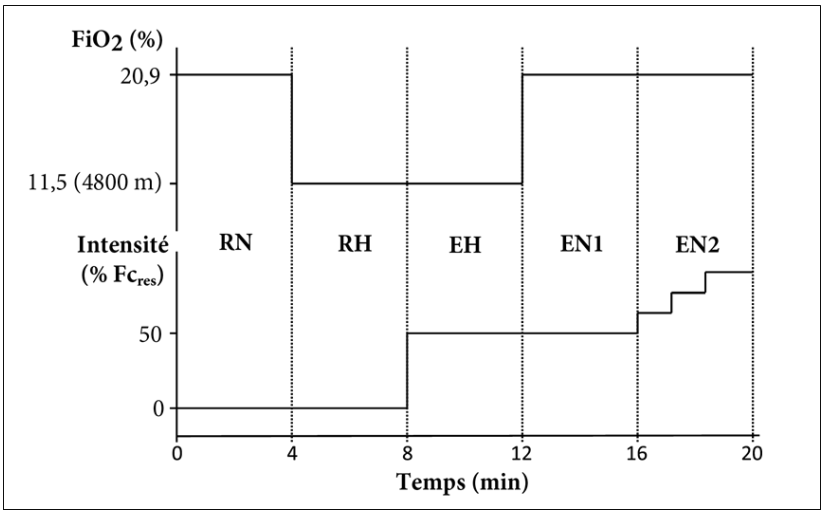


Figure 44 : Les 5 phases du test de « Richalet » exprimées en fonction du temps, de l'intensité et de la fraction d'oxygène inspirée. RN, repos en normoxie ; RH, repos en hypoxie ; EH, exercice en hypoxie ; EN1, exercice en normoxie ; EN2, exercice en normoxie avec augmentation progressive de l'intensité afin d'atteindre la Fc atteinte pendant EH ; FiO_2, fraction d'oxygène inspirée ; Fc_{res}, fréquence cardiaque de réserve (d'après Lhuissier *et coll.* 2012).

Un système de mélangeur de gaz de type Altitrainer$_{200}$® (SMTC, Genève, Suisse) a été utilisé pour recréer l'environnement hypoxique (dilution d'azote dans l'air) (**figure 45**). Les phases comprenant de l'exercice ont été réalisées sur cycloergomètre (ER 900, Jaeger, Wuerzburg, Germany) à une intensité correspondant à 50% de la Fc de réserve (Lhuissier et coll. 2012). Pour un individu donné, la charge de travail était donc similaire entre les phases EH et EN et la fréquence de pédalage était imposée à 70 tours.min^{-1}. Les $\dot{V}_E$, Fc, VES, DC et la SpO_2 ont été enregistrés sur l'ensemble des 5 phases afin de calculer ultérieurement les réponses cardio-ventilatoires à l'hypoxie poïkilocapnique au repos et à l'exercice.

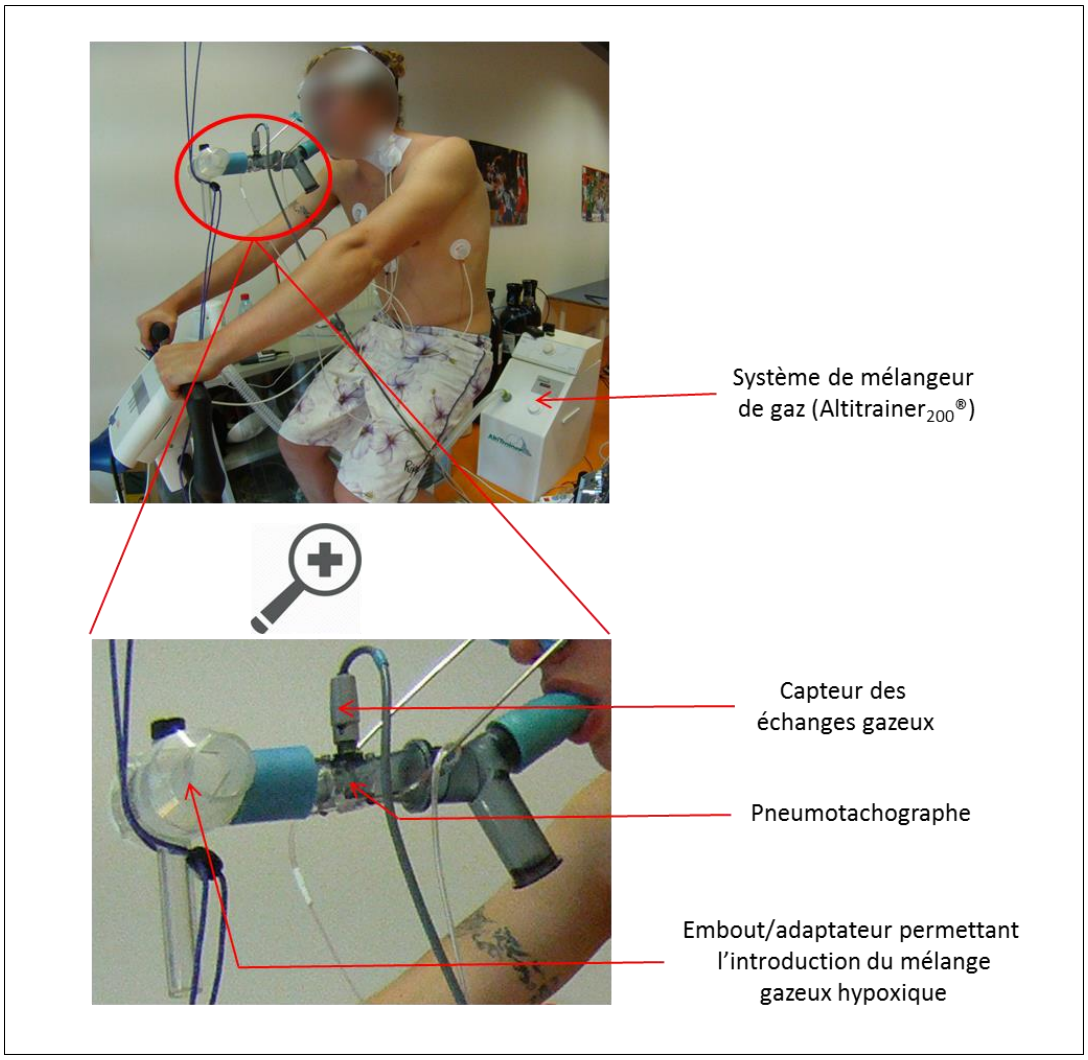


Figure 45 : Photos prises lors de la première phase du test de « Richalet » chez un apnéiste (repos en normoxie).

II.3.5.2 *Test de réinspiration au gaz carbonique de « Read » (étude 3)*

Les réponses ventilatoires à l'hypercapnie ont été déterminées selon le protocole clinique proposé par Read (Read 1967). Le principe consiste à respirer spontanément dans un circuit fermé, ce qui entraîne une augmentation de la fraction de CO_2 expirée (F_eCO_2) liée à l'accroissement progressif de la teneur en gaz carbonique provenant du métabolisme. Confortablement assis, les sujets respiraient spontanément dans un embout buccal relié à une vanne manuelle (3 voies) en T qui permet de passer facilement de l'air ambiant au sac hermétique (modèle 2100, Hans Rudolph, Inc., Kansas, MO, USA). Ce sac, d'une capacité de 10 litres, contenait au préalable un mélange gazeux hyperoxique et hypercapnique (95% d'O_2 et 5% de CO_2). Un milieu hyperoxique (FiO_2 = 95%) a été choisi pour minimiser la participation des chémorécepteurs périphériques à l'hypoxie (Dejours 1965). Le débit

ventilatoire [$\dot{V}_E$ = volume courant (V_T) x fréquence respiratoire (F_r)] et la pression partielle de fin d'expiration en CO_2 ($PetCO_2$) étaient obtenus à chaque cycle respiratoire grâce à un analyseur d'échanges gazeux (Vmax Encore, CareFusion, SensorMedics, Yorba Linda, Ca, USA). Après 3 minutes de respiration spontanée, les participants passaient de l'air ambiant au mélange gazeux contenu dans le sac hermétique grâce à la vanne en T (**figure 46**). À cet instant précis, il était demandé aux sujets de réaliser trois cycles respiratoires profonds afin de garantir dès le début du test des pressions partielles en CO_2 équivalentes au sang veineux mêlé entre le sac, le système pulmonaire et le sang artériel. Puis, le sujet respirait normalement dans le circuit fermé et le test s'achevait quand un de ces critères était atteint : une $PetCO_2$ > 70 mmHg, un $\dot{V}_E$ > 100 $L.min^{-1}$ ou en cas de douleurs ressenties par le sujet.

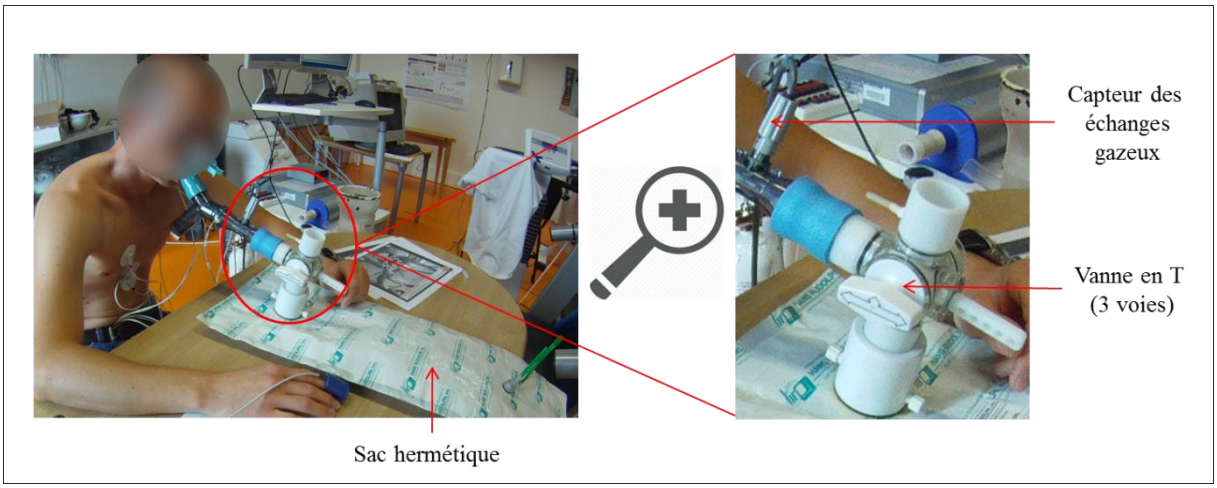


Figure 46 : Test de réinspiration au gaz carbonique de « Read ». La vanne manuelle en T (3 voies) permet de passer de l'air ambiant au mélange gazeux contenu dans le sac hermétique.

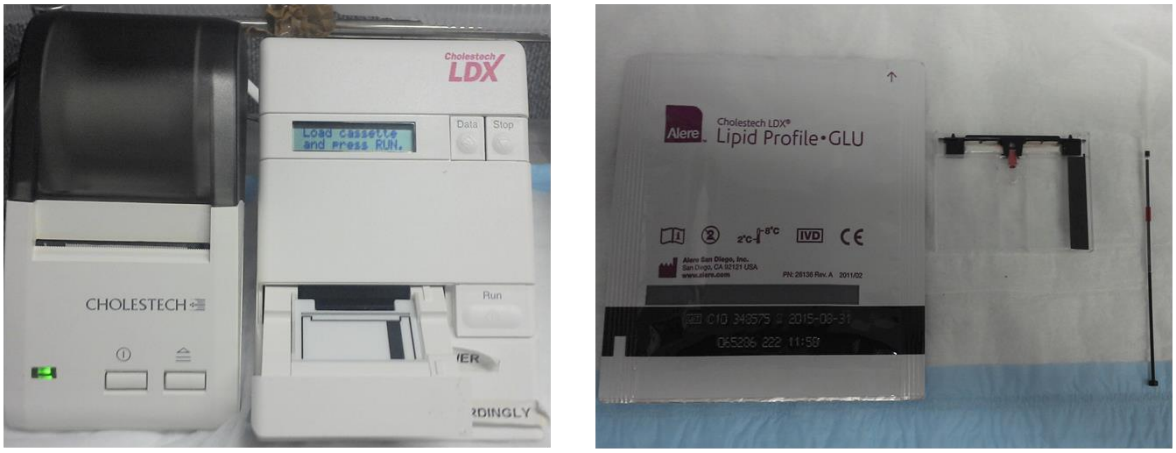
II.3.6 Dosage de l'Adénosine (étude 4)

Le prélèvement et l'analyse des concentrations plasmatiques en adénosine (CPA) ont été décrits précédemment (Guieu et coll. 1999; Saadjian et coll. 2002). En raison de la demi-vie extrêmement courte de l'adénosine (< 10 s) (Klabunde 1983), les échantillons sanguins étaient immédiatement mélangés avec une solution d'arrêt de réaction, ce qui permettait de prévenir la dégradation de la molécule. La solution d'arrêt était composée de 0,2 $mmol.L^{-1}$ de dipyridamole, 4,2 $mmol.L^{-1}$ de NA_2 EDTA, 5,0 $mmol.L^{-1}$ d'EHNA, 79 $mmol.L^{-1}$ d'AMPCP, 1 $UI.mL^{-1}$ de sulfate d'héparine, 1 $UI.mL^{-1}$ de déoxycoformycine et 0,9 % de NaCl. L'échantillon sanguin contenant la solution d'arrêt était ensuite centrifugé à 4°C pendant 10 minutes à 2500 *g*. Le surnageant était déprotéiné (2 mL de perchlorique 70 %), lyophilisé, puis dissous dans 50 $mmol.L^{-1}$ de solution tampon (sodium phosphate à pH 4). La solution

résultante était alors de nouveau filtrée par centrifugation avant d'être analysée par chromatographie liquide à haute performance.

II.3.7 Profil lipidique et glycémique (étude 5)

Les lipoprotéines de haute (HDLc) et de basse densité (LDLc) transportant le cholestérol, le cholestérol total, les triglycérides (TG) et la glycémie à jeun ont été dosés au moyen du Cholestech LDX® (Alere, San Diego, CA, **figure 47**). En utilisant la photométrie par réflectance, l'appareil est capable de déterminer en quelques minutes (6 à 7 min) le profil lipidique et la glycémie d'un sujet à partir d'une ponction capillaire de l'index (35 µL de sang artériel). Les analyses fournies par le Cholestech LDX® ont été validées par rapport aux méthodes de référence utilisées en laboratoire (e.g. immunodosage) (Panz et coll. 2005; Carey et coll. 2006).



(a) (b)

Figure 47 : Cholestech LDX (a). L'appareil utilise des cassettes à usage unique pour le dosage du cholestérol et de la glycémie (b).

II.3.8 Pression artérielle (étude 5)

Les pressions artérielles systoliques et diastoliques ont été enregistrées à l'aide du Finometer Pro® (Finapres Medical Systems, Amsterdam, Pays-bas, **figure 48**). Cet appareil enregistre en continu la pression artérielle à l'aide d'un « brassard » attaché au niveau du doigt (majeur).

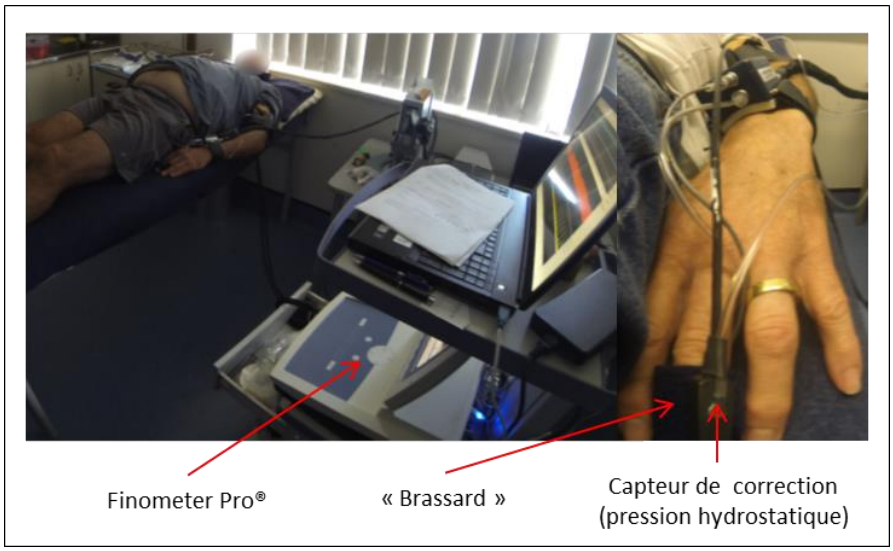


Figure 48 : Enregistrement en continu de la pression artérielle avec le Finometer Pro®.

II.4 Traitement des données

II.4.1 Projet PhysioFLow

II.4.1.1 *Cinétiques hémodynamiques et saturation périphérique en oxygène*

Pour chacun des paramètres hémodynamiques, les valeurs hémodynamiques (absolues) de repos ont été calculées à partir de la moyenne d'une période d'enregistrement de 5 minutes. Pendant l'apnée, le DC, le VES et la Fc étaient calculés sur la moyenne de 3 à 5 battements cardiaques toutes les 20 secondes. La même procédure a été appliquée pour la SpO_2. Afin de comparer les cinétiques dans les deux conditions expérimentales (air libre / immersion), les données hémodynamiques ont ensuite été normalisées en pourcentage à partir des premières valeurs marquant le début de l'apnée, selon la formule suivante :

$$Variations\ hémodynamiques\ (\%) = \frac{Valeur\ hémodynamique}{Valeur\ hémodynamique\ de\ début\ d'apnée} \cdot 100$$

Les cinétiques de la SpO_2 ont aussi été exprimées en pourcentage des valeurs du début d'apnée grâce à la même formule.

II.4.2 Projet BradyModeling

II.4.2.1 *Modélisation de la bradycardie au repos : approche non-linéaire*

La modélisation par régression (linéaire ou non linéaire) permet d'établir, à travers l'étude de paramètres, la relation entre l'évolution d'une variable quantitative observée en fonction d'une ou plusieurs variables quantitatives contrôlées (Motulsky et Ransnas 1987). Le caractère très spécifique de la cinétique de la Fc rencontré pendant l'apnée au repos nous a conduits à employer une approche non linéaire. Dans le projet BradyModeling, nous avons donc cherché à construire un modèle mathématique dont les paramètres sont capables de quantifier la bradycardie pendant l'apnée de longue durée aussi bien en immersion que sans immersion. Ce travail de modélisation a été réalisé à l'aide du module de régression non linéaire inclus dans le logiciel OriginPro (version 9.0, OriginLab, Northampton, MA). Une régression dite « par morceau » a été préférée car celle-ci permet de révéler des points de rupture ainsi que des changements de pattern d'une variable dépendante dans le cas de cinétiques complexes (Lador et coll. 2013). L'estimation des paramètres du modèle s'ajustant à la Fc s'est appuyée sur l'algorithme de Levenberg-Marquardt dont le critère de convergence repose sur la méthode des moindres carrés. Cet algorithme recherche, à travers un processus itératif, la valeur des paramètres qui minimise le carré de la somme des différences entre les valeurs enregistrées et les valeurs prédites de la variable dépendante (Marquardt 1963). Concrètement, en précisant au préalable les contraintes et les valeurs initiales des paramètres, l'algorithme est capable de déterminer précisément la valeur de ces derniers s'ajustant au mieux à la bradycardie. Nous présentons en **annexe 2** les valeurs des paramètres initiaux qui ont été adoptées, ces dernières ayant été choisies à partir de l'observation des points expérimentaux de la Fc. Le nombre maximal d'itérations et le pas d'itération étaient respectivement limités à 400 et 10^{-9}. Dans la plupart des logiciels statistiques, un vaste choix de modélisation « type » est généralement proposé au sein de leur bibliothèque de fonctions (exponentielle, puissance, sigmoïdale, etc.). L'avantage d'OriginPro est de proposer en prime un module de régression non linéaire entièrement paramétrable. Il est ainsi possible d'inclure des expressions conditionnelles grâce au langage de programmation du logiciel (*Origin C*, une déclinaison du langage C). En nous appuyant sur une observation du nuage de points de la moyenne des cinétiques de la Fc, les estimations des paramètres du modèle ont été calculées grâce à une formule définie « par morceaux » dont l'expression mathématique est la suivante, valable pour les deux conditions d'expériences étudiées (**figure 49**) :

Si t < O_{2bp} (première composante du modèle), alors :

$$\%Fc(t) = Fc_{max} - A \cdot \left[1 - e^{\left(\frac{-t}{\tau}\right)}\right] + B \cdot t$$

Si t ≥ O_{2bp} (deuxième composante du modèle), alors :

$$\%Fc(t) = Fc_{max} - A \cdot \left[1 - e^{\left(\frac{-O_{2bp}}{\tau}\right)}\right] + B \cdot O_{2bp} - C \cdot (t - O_{2bp})$$

Avec %Fc(t) en %.min^{-1} ; τ en minute ; A en pourcentage ; B en %.min^{-1} ; O_{2bp} en minute ; C en %.min^{-1} (les termes sont définis dans le **tableau 8**).

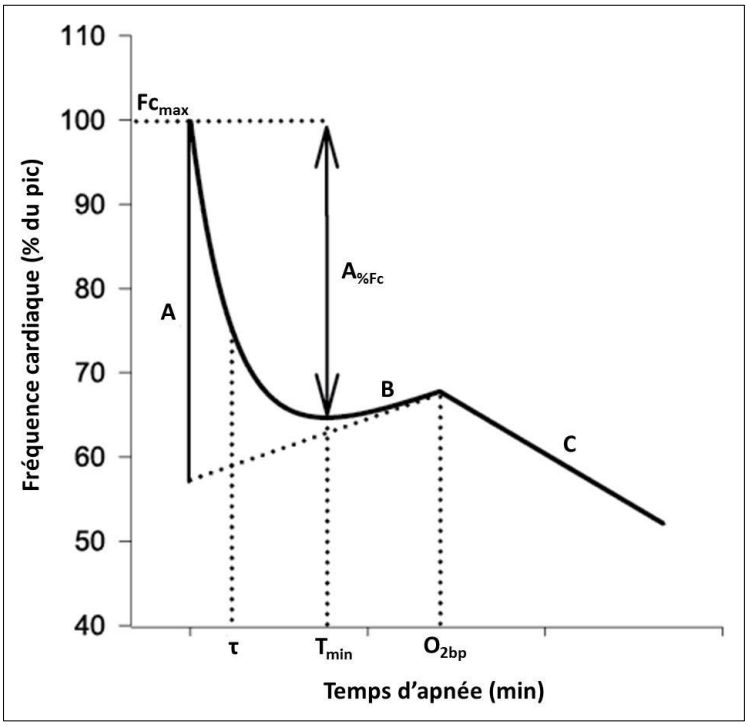


Figure 49 : Les paramètres du modèle tri-phasique s'ajustant à la bradycardie lors d'apnées au repos de plusieurs minutes.

La dérivée mathématique par rapport au temps (t) de la première composante du modèle (Fc si t < O_{2bp}) donne, lorsque celle-ci s'annule, le temps auquel Fc atteint sa valeur minimale (T_{min}). Puis, en remplaçant dans Fc le temps (t) par l'expression algébrique de T_{min} dans la première composante du modèle, on obtient l'expression algébrique de l'amplitude de la bradycardie réellement observée ($A_{\%Fc}$). Les expressions de ces deux paramètres sont présentées ci-dessous en fonction des paramètres initiaux du modèle (**figure 49**) :

$$T_{min} = \tau \cdot \ln\left(\frac{A}{B \cdot \tau}\right) \qquad A_{\%FC} = A - B \cdot \tau \cdot \left[1 + \ln\left(\frac{A}{B \cdot \tau}\right)\right]$$

Avec T_{min} en minute ; $A_{\%Fc}$ en %.

Tableau 8 : Descriptif des paramètres du modèle tri-phasique s'ajustant à la bradycardie lors d'apnées au repos de longues durées.

Symbole	Unité	Descriptif des paramètres du modèle tri-phasique
%Fc(t)	%	Evolution de la Fc exprimée en pourcentage en fonction du temps (t)
Fc_{max}	%	Pic de la Fc exprimé en pourcentage (= 100 %, paramètre fixe)
τ	min	Constante de temps de la décroissance exponentielle (i.e. le temps nécessaire pour atteindre 63% de la Fc)
A	%	Amplitude théorique de la décroissance exponentielle
B	$\%.min^{-1}$	Sensibilité liée à la hausse de la Fc après la décroissance exponentielle
O_{2bp}	min	Temps auquel la bradycardie change significativement de pattern (i.e. le « point d'économie d'O_2 »)
C	$\%.min^{-1}$	Sensibilité de la deuxième baisse de la Fc après O_{2bp}
T_{min}	min	Temps auquel la Fc atteint sa valeur la plus basse lors de la décroissance exponentielle
$A_{\%Fc}$	%	Amplitude de la décroissance exponentielle réellement observée

Enfin, il est important de souligner que le modèle présenté ci-dessus possède deux composantes mathématiques alors que la représentation graphique du modèle est tri-phasique (**figure 49**). Cette différence entre le modèle mathématique et sa représentation graphique s'explique par le caractère hybride de la première composante du modèle qui cumule au sein de la même expression une fonction exponentielle et une fonction linéaire croissante. Par conséquent, tout au long de cette thèse, nous ferons référence à un modèle en 3 phases (i.e. tri-phasique) tout en sachant que son expression mathématique comporte seulement 2 composantes.

II.4.2.2 *Variabilité de la fréquence cardiaque*

Avant l'analyse de la VFC, une attention particulière a été accordée à la détection des artefacts (e.g. extrasystoles, mouvements, etc.). En effet, de récents travaux ont conclu que les indices issus de la VFC étaient très sensibles aux artefacts et plus particulièrement lors de courtes périodes d'enregistrements (Kim et coll. 2012; Peltola 2012). Dans la majorité des études, la problématique des artefacts est certes prise en compte mais celle-ci s'appuie sur des critères subjectifs (inspection visuelle) ou arbitraires (e.g. ± 130% de la moyenne / médiane). Dans un souci d'objectivité, nous avons donc préféré utiliser l'algorithme de Bernston qui permet de détecter les intervalles R–R erronés en s'appuyant sur le calcul d'un critère intra-individuel (Berntson et coll. 1990). Cet algorithme, inclus dans le logiciel libre de droits ARTiiFACT (version 2.07, Würzburg, Allemagne), est considéré comme une référence dans la détection des artéfacts sur les ondes R (Kaufmann et coll. 2011). Enfin, chaque artéfact

détecté était remplacé par une interpolation *spline* cubique afin de ne pas perturber la temporalité de l'enregistrement (Lippman et coll. 1994).

Deux indices de la VFC ont été choisis pour analyser la régulation du système nerveux autonome lors d'apnées prolongées. Le premier que nous avons utilisé appartient à la catégorie des indices temporels de la VFC et celui-ci correspond à la racine carrée des différences au carré des intervalles R-R successifs (RMSSD). Cet indicateur reflète l'activité parasympathique du cœur (nœud sinusal). Il possède l'avantage d'avoir été validé lors d'enregistrements non stationnaires de la Fc tels que ceux de la réactivation parasympathique après l'effort (Goldberger et coll. 2006). L'évolution dynamique de l'activité parasympathique pendant l'apnée a été analysée en s'appuyant sur les RMSSDs calculés sur des fenêtres temporelles successives de 30 secondes jusqu'au terme de chaque apnée (**figure 50**). Cette fenêtre temporelle a été choisie car celle-ci constitue l'une des plus courtes périodes capable de détecter les modifications du tonus parasympathique dans le cas de cinétiques non-linéaires (Goldberger et coll. 2006).

Enfin, le deuxième indice de la VFC que nous avons choisi s'appuie sur l'analyse des fluctuations redressées (DFA), méthodologie dont la genèse provient des théories sur les systèmes dynamiques. Dans les années 1990, des travaux ont transféré ces concepts à l'étude de séries temporelles biologiques tels que le rythme cardiaque (Peng et coll. 1993). Ces études ont abouti à la création d'un exposant fractal à court terme (DFAα1 : $4 \leq n \leq 16$ battements) et d'un exposant fractal à long terme (DFAα2 : $16 \leq n \leq 64$ battements) (Peng et coll. 1995; Voss et coll. 2009). Le DFAα2 ne sera pas étudié, car aucune étude à notre connaissance, n'a pu établir de liens physiologiques avec ce dernier, ce qui n'est en revanche pas le cas pour le DFAα1. Il a en effet été démontré qu'une baisse du DFAα1 était corrélée à une co-activation du tonus périphérique sympathique et du tonus vagal cardiaque (Tulppo et coll. 2005). À l'inverse, une augmentation de cet indice reflète une hausse de l'activité sympathique périphérique associée à une baisse du tonus vagal cardiaque (Tulppo et coll. 2005). Cet indice apporte donc des informations complémentaires au RMSSD sur le contrôle de l'activité autonomique et plus précisément sur la régulation de la balance sympathovagale. L'analyse des fluctuations redressées permet également de s'affranchir de la condition de stationnarité des signaux, par opposition à l'analyse spectrale où celle-ci est requise (Goldberger et coll. 2002). L'analyse spectrale de la VFC dans le but de quantifier la balance sympathovagale fait à l'heure actuelle l'objet de nombreuses interrogations concernant la fiabilité de son interprétation physiologique sur de courtes périodes d'échantillonnages (Goldstein et coll. 2011; Heathers 2014). Au regard de ces critiques grandissantes et du comportement non-

stationnaire de la Fc pendant l'apnée (**figure 50**), nous avons choisi d'écarter cet outil dans l'analyse de la régulation du système nerveux autonome.

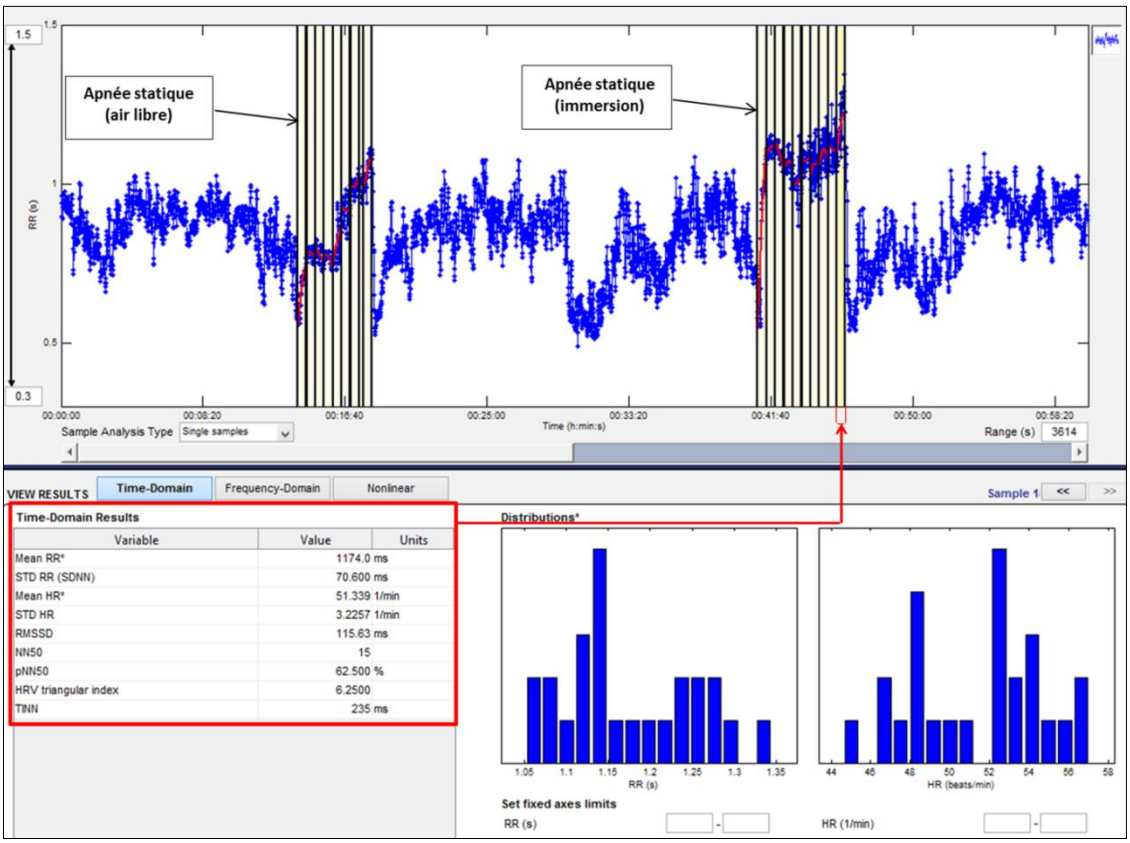


Figure 50 : Analyse de la variabilité de la fréquence cardiaque (VFC) lors d'une apnée statique maximale à l'air libre et en immersion (Kubios HRV, version 2.1). Les RMSSD ont été calculés par tranche de 30 secondes tout au long de l'apnée (barres jaunes). Dans cet exemple, les résultats encadrés en rouge illustrent les paramètres de la VFC du domaine temporel calculés sur les 30 dernières secondes de l'apnée statique en immersion.

II.4.3 Projet FreeHypox

II.4.3.1 *Cinétiques hémodynamiques, saturation périphérique en oxygène et oxygénation musculaire*

Avant l'analyse statistique, les cinétiques hémodynamiques (Fc, VES et DC), de la SpO_2 et de l'oxygénation musculaire ([HbO_2], [HHb], [tHb] et StO_2) lors de l'apnée à l'effort ont été exprimées en fonction du pourcentage du temps d'apnée. Cette transformation mathématique permet de prendre en compte la différence de temps d'apnée entre le groupe d'apnéistes et le groupe témoin. Des interpolations par *spline* cubique ont par ailleurs été appliquées aux jeux de données afin de prendre en considération les écarts de temps d'apnée au sein d'un même groupe. Les variables décrivant l'oxygénation musculaire ont été

légèrement transformées en utilisant un filtre passe-bas (moyenne mobile, paramètre fixé à 0,5 s) afin d'atténuer les oscillations attribuables au cycle de contraction-relaxation des fibres musculaires (seules les cinétiques étaient pertinentes pour notre analyse) (Binzoni et coll. 2010). Les variables hémodynamiques ont été exprimées en valeurs relatives du début d'apnée (sauf pour la Fc) selon la même approche que le projet PhysioFlow. En effet, les variations de pression intrathoracique en début d'apnée étaient en mesure de modifier le signal d'impédance (*dZ/dt*), ce qui aurait pu entraîner une surestimation du VES et du DC (Bougault et coll. 2005). Exception faite de la StO_2, des transformations similaires ont été appliquées aux variables décrivant l'oxygénation musculaire.

II.4.3.2 *Modélisation de la bradycardie à l'effort : approche linéaire*

Une approche linéaire de la modélisation par régression a été utilisée pour quantifier les cinétiques de la bradycardie au cours d'apnées à l'effort chez des apnéistes et des non-apnéistes. Au regard des patterns de la Fc chez les apnéistes, une double régression linéaire « par morceau » a été utilisée afin de quantifier la bradycardie. La première régression linéaire correspond à la pente (sensibilité) de la bradycardie au début de l'apnée dynamique (Fc_{S1}). La seconde régression linéaire correspond à une accentuation de la chute de la bradycardie lors de la seconde phase de l'apnée dynamique (Fc_{S2}). Enfin, l'intersection mathématique de Fc_{S1} et Fc_{S2} représente le point à partir duquel la bradycardie change significativement de pattern (O_{2bp}). Chez les non-apnéistes, une simple régression linéaire était suffisante pour caractériser la sensibilité de la bradycardie tout au long de leur apnée dynamique (Fc_S). Par conséquent, le modèle de ces sujets ne comporte qu'un seul paramètre, i.e. la sensibilité de la chute de la Fc au cours de l'apnée dynamique (Fc_s). Les représentations graphiques des paramètres des modèles linéaires ainsi que leur descriptif sont présentés dans la **figure 51** et le **tableau 9**.

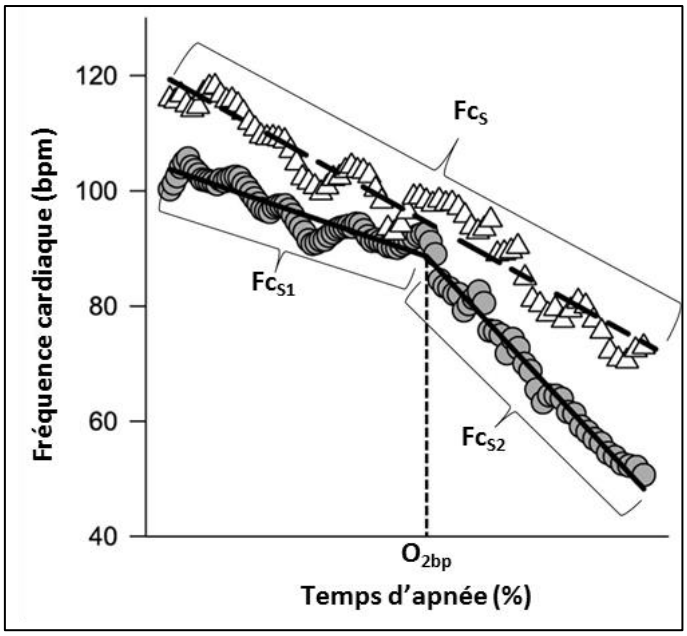


Figure 51 : Représentation graphique des paramètres issue de la régression linéaire simple (non-apnéistes, tracé en pointillé) et de la double régression linéaire (apnéistes, tracé continu) s'ajustant à la bradycardie lors d'apnées à l'effort (se reporter au **tableau 9** pour le descriptif des paramètres).

Tableau 9 : Descriptif des paramètres des modèles de régression s'ajustant à la bradycardie lors d'apnées à l'effort chez les apnéistes et les sujets témoins

Population	Modèle de régression	Symboles	Unités	Descriptif des paramètres de la régression
Apnéistes	Double régression linéaire par morceau	O_{2bp}	%	« Point d'économie d'O_2 » : temps auquel la bradycardie change significativement de sensibilité
		Fc_{S1}	bpm.%$^{-1}$	Sensibilité de la bradycardie avant d'atteindre O_{2bp}
		Fc_{S2}	bpm.%$^{-1}$	Sensibilité de la bradycardie après avoir atteint O_{2bp}
Témoins	Linéaire simple	Fc_S	bpm.%$^{-1}$	Sensibilité de la bradycardie tout au long de l'apnée dynamique

II.4.4 Projet CarbOxy

II.4.4.1 *Sensibilités cardio-ventilatoires au gaz carbonique*

Les réponses ventilatoires à l'hypercapnie ont été calculées grâce au logiciel Sigma Plot (version 12.3, SPSS, Chicago, IL, USA) en s'appuyant sur la méthodologie décrite par James Duffin (Duffin et coll. 2000; Jensen et coll. 2010). Préférée à celle initialement proposée par Read, l'approche analytique de Duffin permet une détermination plus fine des réponses en privilégiant un meilleur compromis entre les paramètres décrivant la chémosensibilité à l'hypercapnie (Duffin 2011) : le seuil de recrutement ventilatoire (VRT, *Ventilatory*

Recruitment Threshold) et la sensibilité ventilatoire au CO_2 ($\dot{V}_E S$). Au préalable, les 3 respirations profondes exigées en début du test ont été retirées avant l'analyse des paramètres tout comme les artefacts respiratoires. Pour chaque sujet, le nuage de points correspondant à l'expression de $\dot{V}_E$ en fonction de la $PetCO_2$ a été ajusté par une double régression linéaire (i.e. deux segments continus). La première régression linéaire est une constante décrivant la ventilation au repos du sujet ($\dot{V}_E B$) et sa détermination sert à l'extrapolation du VRT. Le second segment linéaire dont la pente mathématique reflète une estimation du $\dot{V}_E S$ correspond à l'augmentation progressive du $\dot{V}_E$ provoquée par l'accumulation de CO_2 réinspiré dans le sac ($\Delta\dot{V}_E$ / $\Delta PetCO_2$). Enfin, l'intersection mathématique des deux segments de la régression représente le VRT, point à partir duquel le $\dot{V}_E$ croît linéairement. Les paramètres sont présentés sur la **figure 52**. Enfin, les réponses cardiovasculaires (Fc, VES et DC) à l'hypercapnie ont été calculées à partir de la moyenne de 3 à 5 battements cardiaques tous les 20 % du test.

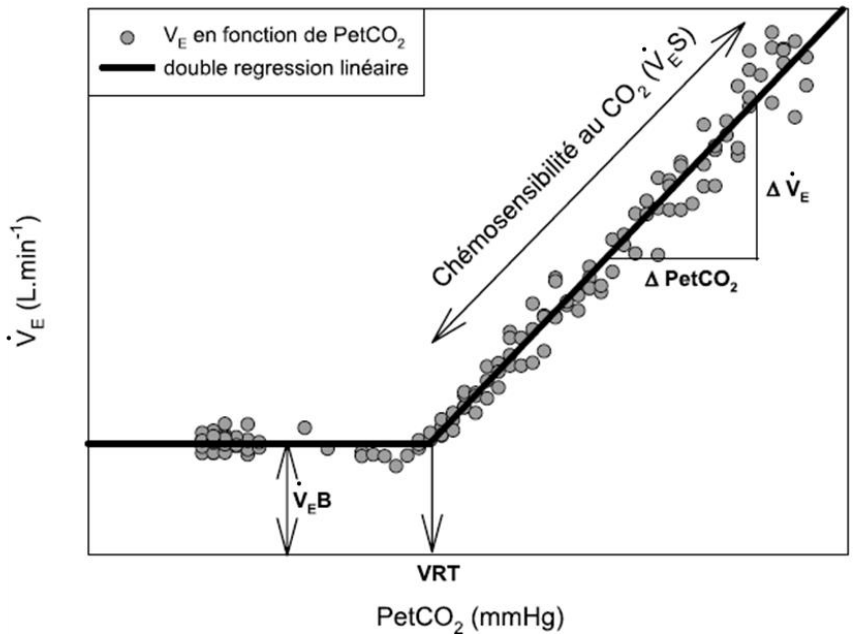


Figure 52 : Représentation graphique des paramètres mis en jeux dans la réponse ventilatoire au CO_2 suite au test de réinspiration au gaz carbonique (test de « Read »). $\dot{V}_E$, débit ventilatoire ; $PetCO_2$, pression partielle de fin d'expiration en CO_2 ; $\dot{V}_E S$, sensibilité ventilatoire au CO_2 ; VRT, seuil de recrutement ventilatoire, $\dot{V}_E B$, débit ventilatoire au repos.

II.4.4.2 *Sensibilités cardio-ventilatoires à l'hypoxie*

Tout d'abord, les variables enregistrées à partir des tests à l'hypoxie ont été moyennées sur la dernière minute de chaque phase (RN, RH, EN, EH et EN2). Les désaturations au repos (ΔSa_r) et à l'exercice (ΔSa_r) ont ensuite été calculées de la façon suivante :

$$\Delta Sa_r(\%) = SaO_{2_{RN}} - SaO_{2_{RH}}$$

$$\Delta Sa_e(\%) = SaO_{2_{EN}} - SaO_{2_{EH}}$$

Puis les réponses ventilatoires à l'hypoxie (HVR_r et HVR_e) et les réponses cardiaques à l'hypoxie (HCR_r et HCR_e) ont ainsi pu être calculées (**figures 53 et 54**) :

$$HVR_r(L \cdot min^{-1} \cdot kg^{-1}) = \frac{\dot{V}_{E_{RH}} - \dot{V}_{E_{RN}}}{\frac{\Delta Sa_r \cdot MC}{100}} = \frac{\Delta \dot{V}_{E_r}}{\frac{\Delta Sa_r \cdot MC}{100}}$$

$$HVR_e(L \cdot min^{-1} \cdot kg^{-1}) = \frac{\dot{V}_{E_{EH}} - \dot{V}_{E_{EN}}}{\frac{\Delta Sa_e \cdot MC}{100}} = \frac{\Delta \dot{V}_{E_e}}{\frac{\Delta Sa_e \cdot MC}{100}}$$

$$HCR_r(bpm \cdot \%^{-1}) = \frac{Fc_{RH} - Fc_{RN}}{\Delta Sa_r}$$

$$HCR_e(bpm \cdot \%^{-1}) = \frac{Fc_{EH} - Fc_{EN}}{\Delta Sa_e}$$

Avec MC, la masse corporelle du sujet.

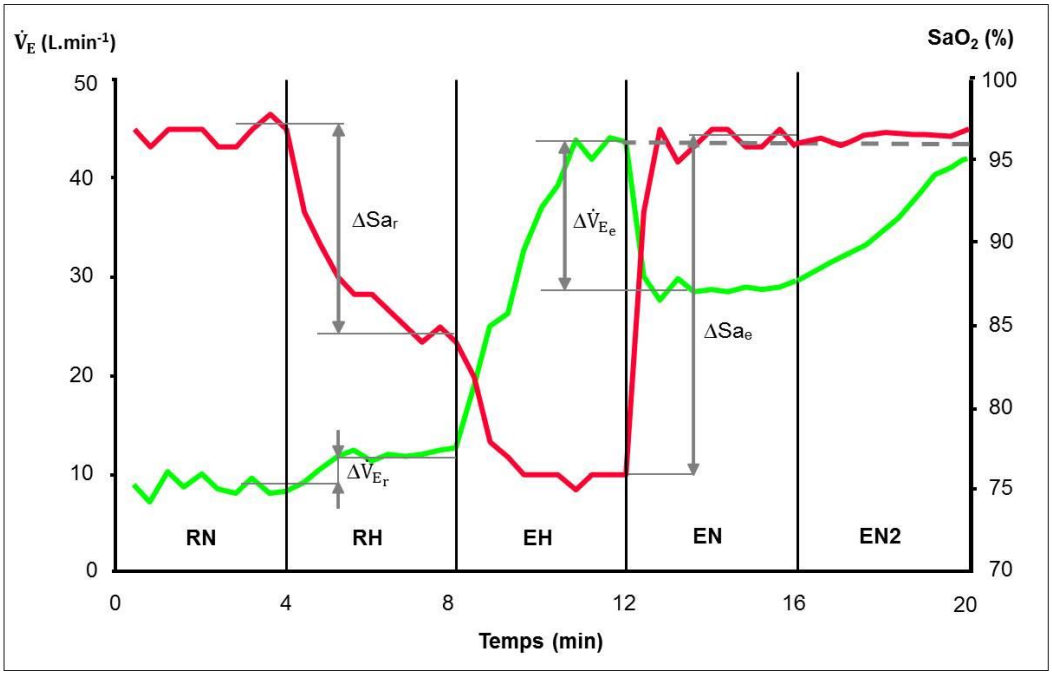


Figure 53 : Cinétiques du débit ventilatoire ($\dot{V}_E$, tracé vert) et de la saturation artérielle en oxygène (SaO_2, tracé rouge) au cours des différentes phases du test de « Richalet ». Les paramètres nécessaires au calcul de la réponse ventilatoire à l'hypoxie sont également illustrés (d'après Richalet *et coll.* 2012).

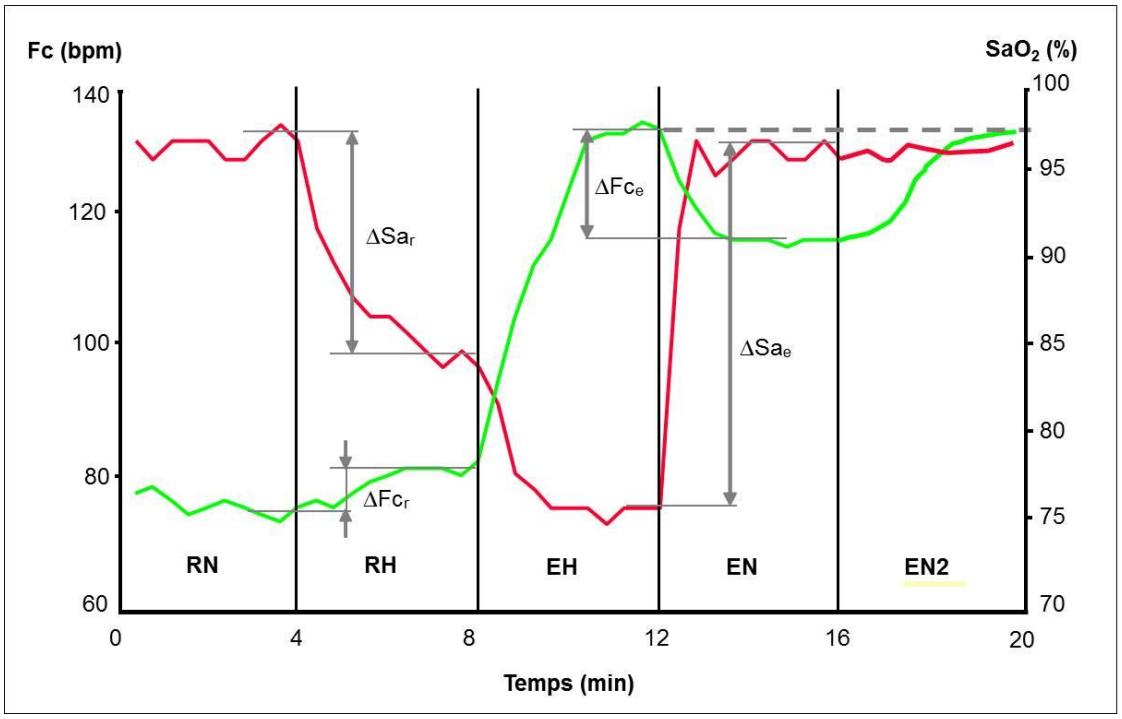


Figure 54 : Cinétiques de la fréquence cardiaque (Fc, tracé vert) et de la saturation artérielle en oxygène (SaO_2, tracé rouge) au cours des différentes phases du test de « Richalet ». Les paramètres nécessaires au calcul de la réponse cardiaque à l'hypoxie sont également illustrés (d'après Richalet *et coll.* 2012).

À Fc équivalente, la perte de puissance relative entre EN2 et EH (ΔPO_{rel}) a été calculée selon la formule suivante :

$$\Delta PO_{rel}(W \cdot \%^{-1}) = \frac{PO_{EN2} - PO_{EH}}{\Delta Sa_e}$$

Enfin, les réponses du DC et du VES à l'hypoxie au repos (respectivement $HDCR_r$ et $HVESR_r$,) ainsi qu'à l'exercice (respectivement $HDCR_e$ et $HVESR_e$) ont également été reportées, leur expression mathématique étant analogue aux réponses cardiaques à l'hypoxie.

II.5 Analyse statistique

II.5.1 Taille des échantillons

Une analyse de la puissance statistique *a priori* a été menée pour déterminer la taille de l'échantillon (G*Power 3). Celle-ci a été déterminée sur la base des moyennes et écarts-types de travaux antérieurs en considérant une erreur de type I de 5% et une puissance statistique d'au moins 80% (erreur de type II < 20%) :

- Etude 1a, 1b : 11 apnéistes (puissance statistique = 96%). L'échantillon a été calculé à partir de l'étude de Jay *et coll.* qui ont comparé les effets de l'immersion du visage sur la bradycardie du réflexe de plongée (Jay et coll. 2007). Les valeurs retenues sont le taux de chute de la Fc (dFc / dt) entre l'apnée à l'air libre et l'apnée avec immersion du visage dans une bassine à 20°C (-31 ± 15 vs. -54 ± 25 $b.min^{-2}$, respectivement). La taille de l'effet calculée à partir de ces résultats est de 1,11.

- Étude 2 : 16 sujets : 8 apnéistes / 8 non-apnéistes (puissance statistique = 93%). Cet échantillon a été déterminé à partir de l'étude de Lemaitre *et coll.* qui avaient comparé la bradycardie entre des apnéistes et des sujets témoins (Lemaître et coll. 2008). Les valeurs retenues sont les Fc les plus basses au cours de l'apnée entre un groupe d'apnéistes entraînés et le groupe témoin (46,0 ± 13,0 vs. 64,7 ± 9,2 $b.min^{-1}$, respectivement). La taille de l'effet calculée à partir de ces résultats est de 1,66.

- Étude 3 : 14 sujets : 7 apnéistes / 7 non-apnéistes (puissance statistique = 89%). L'échantillon a été calculé à partir du travail de Katamaya *et coll.*, comparant les effets d'un entraînement en hypoxie sur la réponse ventilatoire à l'hypoxie (Katayama et coll. 2005b). Les valeurs retenues sont les HVR mesurées entre le groupe normoxique et le groupe hypoxique après un protocole hypoxique d'une semaine (0,29 ± 0,13 vs. 0,59 ± 0,21 $L.min^{-1}.\%^{-1}$, respectivement). La taille de l'effet calculée à partir de ces résultats est de 1,76.

- Étude 4 : 20 apnéistes internationaux : 11 apnéistes « syncopeurs » / 9 apnéistes « non-syncopeurs » (puissance statistique = 92%). L'échantillon a été calculé sur l'étude de Deharo *et coll.* qui a comparé les concentrations plasmatiques en adénosine (CPA) chez des personnes souffrant d'épisodes syncopaux récurrents et des personnes n'en ayant jamais eu (1,15 ± 0,79 vs. 0,52 ± 0,19 µM, respectivement) (Deharo et coll. 2013). La taille de l'effet calculée à partir de ces résultats est de 1,43.

- Étude 5 : (cf. section « limites », page 174).

II.5.2 Qualité d'ajustement des modèles (étude 1a)

Les tests statistiques qui vont être détaillés dans cette partie ont été choisis parmi les paramètres les plus utilisés de la littérature sur la modélisation par régression de modèles non-linéaires. Trois tests statistiques ont tout d'abord été utilisés afin de déterminer la qualité d'ajustement du modèle monophasique et tri-phasique s'appliquant aux données expérimentales de la Fc enregistrée lors d'apnées prolongées. Le premier, le coefficient de détermination ajusté ($\bar{R}^2$) est un indicateur jugeant la qualité d'une régression tout en pénalisant le coefficient de détermination (R^2) par la prise en compte du nombre de paramètres impliqués dans chaque modèle (Figueiredo Filho et coll. 2011). Cet indice a donc été privilégié par rapport au R^2 car le modèle mono-exponentiel (monophasique) comprend un nombre moins important de paramètres que son homologue tri-phasique (3 vs. 6, respectivement). Par conséquent, le R^2 pourrait donc injustement favoriser le modèle contenant le plus de paramètres. Le coefficient $\bar{R}^2$ se définit comme la part de variance expliquée par la régression par rapport à la variance totale en prenant en compte le nombre de paramètres propre à chaque modèle :

Sachant que,

$$R^2 = \left(1 - \frac{SCR}{SCT}\right)$$

Alors,

$$\bar{R}^2 = 1 - \frac{n-1}{n-(p+1)} \cdot (1 - R^2)$$

Avec n, le nombre d'observations ; p, le nombre de paramètres du modèle ; SCR, la somme des carrés des résidus ; SCT, la somme des carrés totaux.

Un autre indice rendant compte de la qualité d'ajustement d'un modèle est l'écart-type des résidus (Christopoulos et Lew 2000). Il se définit mathématiquement comme la racine carrée de la somme des carrés des erreurs (RMSE : *root mean square errors*) :

$$RMSE = \sqrt{\frac{SCR}{DDL}}$$

Avec SCR, la somme des carrés des résidus ; DDL, le nombre de degrés de liberté (nombre d'observations – nombre de paramètres du modèle).

Enfin, une façon simple de vérifier la qualité d'un ajustement est de vérifier que la valeur du chi-carré (χ^2) divisée par le nombre de degrés de liberté de la régression se rapproche de 1.

La prise en compte des degrés de liberté lui donne le nom de khi-carré réduit (χ^2_{red}) (*reduced chi-square*) et il a donc également l'avantage de prendre en compte la complexité du modèle :

$$\chi^2_{red} = \frac{1}{DDL} \cdot \sum \frac{(Y - \hat{Y})^2}{\sigma^2} = \frac{\chi^2}{DDL}$$

Avec DLL, le nombre de degrés de liberté ; Y, les valeurs observées ; $\hat{Y}$, les valeurs prédites par le modèle de régression ; σ^2, la variance des valeurs expérimentales.

Une valeur du χ^2_{red} très largement supérieure à 1 indique que le modèle n'est pas adapté aux données expérimentales observées, alors qu'une valeur proche de 1 est considérée comme un modèle s'ajustant correctement aux données expérimentales (Bevington et Robinson 2003; Spiess et Neumeyer 2010).

II.5.3 Comparaison de modèles de régression (étude 1b)

Les indices statistiques précédemment détaillés nous ont renseignés sur la qualité d'ajustement des deux modèles sur les cinétiques de la Fc. La deuxième étape de validation d'un modèle nécessite une comparaison directe du nouveau modèle proposé avec celui ou ceux existant déjà dans de la littérature. Nous avons donc comparé notre modèle tri-phasique au seul modèle mono-phasique (mono-exponentiel) proposé par Caspers *et coll.* pour décrire la bradycardie lors de courtes apnées (< 60 s) (Caspers et coll. 2011).

Il existe un certain nombre de critères dont le but est de faciliter le choix du modèle mathématique décrivant le mieux le phénomène observé. Parmi ces indicateurs, le critère d'information d'Akaike (AIC, de l'anglais Akaike information criterion) est l'un des plus utilisés et permet de comparer différents modèles s'ajustant à un même jeu de données expérimentales tout en prenant en compte le principe fondamental de parcimonie (Burnham 2010). Brièvement, ce concept tend à considérer que le modèle le plus approprié est le modèle possédant le meilleur compromis entre la qualité de son ajustement et sa complexité intrinsèque (Burnham 2010). De ce principe, un modèle incorporant un nombre trop important de paramètres perdra en précision (situation de sur-paramétrage) tandis qu'un modèle avec un nombre trop restreint de paramètres sera considéré comme biaisé (situation de sous-paramétrage) (Lehmann 1990). En d'autres termes, l'AIC représente un compromis entre le biais (qui diminue avec le nombre de paramètres) et la parcimonie (nécessité de décrire les données avec le plus petit nombre de paramètres possible).

D'un point de vue algébrique, l'AIC se calcule de la façon suivante sachant que le modèle à retenir est celui possédant l'AIC le plus petit (Akaike 1974) :

$$AIC = -2 \cdot ln(L) + 2 \cdot p$$

Avec L, l'estimation du maximum de vraisemblance[13] ; p, le nombre de paramètres du modèle.

Cas particulier de notre étude, nous connaissons la somme des carrés des résidus (SCR) des deux modèles car il s'agit d'une analyse par régression, donc l'AIC peut se simplifier de la façon suivante (Motulsky et Christopoulos 2004) :

$$AIC = n \cdot ln\left(\frac{SCR}{n}\right) + 2 \cdot p$$

Avec n, le nombre d'observations ; SCR, la somme des carrés des résidus ; p, le nombre de paramètres du modèle.

Notons enfin que l'AIC n'appartient pas à la catégorie des tests d'hypothèse ; il ne sera donc jamais question de différences significatives. Son interprétation doit ainsi davantage être perçue comme un indicateur permettant de choisir le « meilleur » modèle.

II.5.4 Comparaison des échantillons (études 1, 2, 3, 4, 5)

Tout d'abord, l'égalité des variances et la normalité de la distribution des échantillons ont systématiquement été vérifiées à l'aide des tests de Levene et de Shapiro-Wilk. En cas d'analyse de variance (ANOVA) sur mesures répétées, le test de Mauchly était en sus utilisé pour vérifier l'hypothèse de sphéricité. Le cas échéant, les degrés de liberté étaient corrigés grâce à l'epsilon de GreenHouse-Geisser afin de valider la statistique F de Fisher.

Les analyses de variance (ANOVA) sur mesures répétées ont été privilégiées pour le suivi statistique des cinétiques hémodynamiques (études 1a). Lorsque l'hypothèse nulle (H_0) se voyait rejetée, le test de comparaison multiple de Bonferroni était utilisé pour spécifier les moyennes qui différaient au cours du temps. Dans l'**étude 2**, les interactions entre le facteur inter-sujet (apnéistes vs. témoins) et le facteur intra-sujet (temps) ont nécessité l'emploi d'ANOVA à plan d'expérience mixte[14] à deux facteurs (cf. **annexe 4**). Les comparaisons de deux échantillons issus de groupes indépendants s'effectuaient au moyen du test *t* de *Student* non apparié (**étude 3**). Dans cette même étude, des ANOVA à plan d'expérience mixte ont par ailleurs été adoptées pour comparer l'évolution des paramètres hémodynamiques entre les groupes (apnéistes vs. témoins) au cours des deux phases (normoxique vs. hypoxique). Le

[13] Vraisemblance : adéquation entre la distribution observée sur un échantillon aléatoire et une loi de probabilité supposée pour décrire une réalité sur la population dont l'échantillon est issu.
[14] ANOVA s'intéressant aux interactions entre un facteur intra-sujet et un facteur inter-sujet

coefficient de corrélation de Pearson a été utilisé pour l'étude des corrélations linéaires entre deux variables (**étude 4**). Enfin, les tests de Friedman et de Wilcoxon ont été privilégiés pour comparer l'effet des traitements sur les paramètres cardio-métaboliques (**étude 5**).

Les analyses statistiques ont été conduites à l'aide des logiciels SPSS (version 21, IBM SPSS Inc., Chicago, IL) et OriginPro (version 9.0, OriginLab®, Northampton, MA). Les graphiques ont été réalisés à partir du logiciel Sigma Plot (version 12.5, SPSS, Chicago, IL, USA), puis ont été enregistrés au format vectoriel (*.eps) ou image (*.png, *.jpeg). Dans un ultime souci de clarté, ces derniers ont parfois fait l'objet de petites retouches sous Adobe Illustrator (version CS6, Adobe Systems, San Jose, CA). Pour toutes les études, le seuil de significativité considéré était $p < 0,05$.

PARTIE III :

RÉSULTATS

III.1 Projet PhysioFlow (étude 1a)

III.1.1 Temps des apnées statiques

Les apnéistes ont réalisé des apnées plus longues en immersion qu'à l'air libre (240,5 ± 18,5 s vs. 268,0 ± 40,2 s ; respectivement, $p < 0,05$).

III.1.2 Paramètres hémodynamiques avant et au départ de l'apnée

Les valeurs absolues des paramètres hémodynamiques enregistrées pendant les périodes de repos précédant les apnées sont présentées dans le **tableau 10**. Ce tableau résume aussi les valeurs des paramètres hémodynamiques enregistrées au départ de l'apnée dans chaque condition.

Tableau 10 : Valeurs absolues des paramètres hémodynamiques enregistrées avant et au départ de l'apnée dans chaque condition.

	Fc (bpm)	VES (mL)	DC ($L.min^{-1}$)	SpO_2 (%)	TEV (ms)	IC (SI)	MSER ($mL.s^{-1}$)	PAM (mmHg)	RVS ($dyne.s.cm^{-5}$)
	Sans immersion								
Repos avant l'apnée	64 ± 7	95 ± 14	6,0 ± 0,7	99 ± 1	282,0 ± 17,9	215,2 ± 74,2	339,2 ± 58,2	91,6 ± 7,3	1229,0 ± 148,5
Départ de l'apnée	96 ± 8*	97 ± 14	9,5 ± 1,8*	99 ± 0,5	-	-	-	-	-
	Avec immersion								
Repos avant l'apnée	71 ± 10	86 ± 12	6,1 ± 0,9*	99 ± 1	252,8 ± 36,6	212,9 ± 85,4	348,0 ± 89,1	-	-
Départ de l'apnée	98 ± 12*	96 ± 14	9,4 ± 1,4*	99 ± 0,5	-	-	-	-	-

Moyenne ± Écart-type. Fc, fréquence cardiaque ; VES, volume d'éjection systolique ; DC, débit cardiaque ; SpO_2, saturation périphérique en oxygène ; TEV, temps d'éjection ventriculaire ; IC, indice de contractilité ; MSER, taux moyen d'éjection systolique ; PAM, pression artérielle moyenne ; RVS, résistances vasculaires systémiques. *$p < 0,001$ entre valeurs de repos et valeurs de départ de l'apnée (d'après Costalat *et coll.* 2013).

III.1.3 Cinétiques hémodynamiques et saturation périphérique en oxygène

Pendant l'apnée, les ANOVA sur mesures répétées montrent que la fréquence cardiaque (Fc), le volume d'éjection systolique (VES), le débit cardiaque (DC) et la saturation périphérique en oxygène (SpO_2) chutent progressivement par rapport aux valeurs enregistrées

au départ de l'apnée (**figure 55**). Les tests post-hoc révèlent que le DC, le VES et la Fc baissent dans la première minute de l'apnée dans les deux conditions expérimentales (**figure 55a-c**). Puis, la Fc chute de nouveau après environ 50-60% du temps d'apnée total, un phénomène que nous retrouvons lors de l'apnée en immersion et de l'apnée à l'air libre (**figure 55c**). Après une baisse en début d'apnée, le VES augmente quant à lui progressivement au cours de la dernière partie de l'apnée à la fois en immersion (+17,0 ± 20.2 % ; $p < 0.05$) et à l'air libre (+10,9 ± 13,8 %, $p < 0,05$). Jusqu'à 50-60% du temps total d'apnée, le volume télédiastolique (VTD) est inférieur au VTD enregistré au départ de l'apnée à la fois en immersion (6,8 ± 10,3 % ; $p < 0,05$ vs. départ apnée) et à l'air libre (7,2 ± 8,7 % ; $p < 0,05$ vs. départ apnée). Puis, à partir de 50-60% du temps total d'apnée, le VTD augmente progressivement, retrouvant ses valeurs de début d'apnée en immersion (8,9 ± 12,3 %, $p < 0,05$) et d'apnée à l'air libre (11,0 ± 9,0 %, $p < 0,05$). Dans les deux conditions, les SpO_2 ont chuté de manière comparable à partir de 2 minutes d'apnée (**figure 55d**).

Tout au long de l'apnée en immersion, le DC est inférieur au DC enregistré lors de l'apnée à l'air libre (fin d'apnée : 55,9 ± 10,4 vs. 39.3 ± 16,8 %, respectivement ; $p < 0,01$ entre les deux conditions) (**figure 55a**). La Fc est inférieure aux valeurs calculées au cours de l'apnée à l'air libre (*première chute* : 39,7 ± 16,7 vs. 33,6 ± 17,0 %, respectivement, $p < 0,01$ entre conditions ; *deuxième chute* : 14,0 ± 10,0 vs. 12,7 ± 8,9 %, respectivement, $p < 0,01$ entre conditions) (**figure 55c).** L'indice de contractilité (IC) et le taux moyen d'éjection systolique baissent uniquement lors de l'apnée en immersion (45,3 ± 49,4 % ; $p < 0,05$ vs départ de l'apnée). En revanche, le temps d'éjection ventriculaire (TEV) n'évolue pas au cours de l'apnée dans les deux conditions ($p > 0,05$).

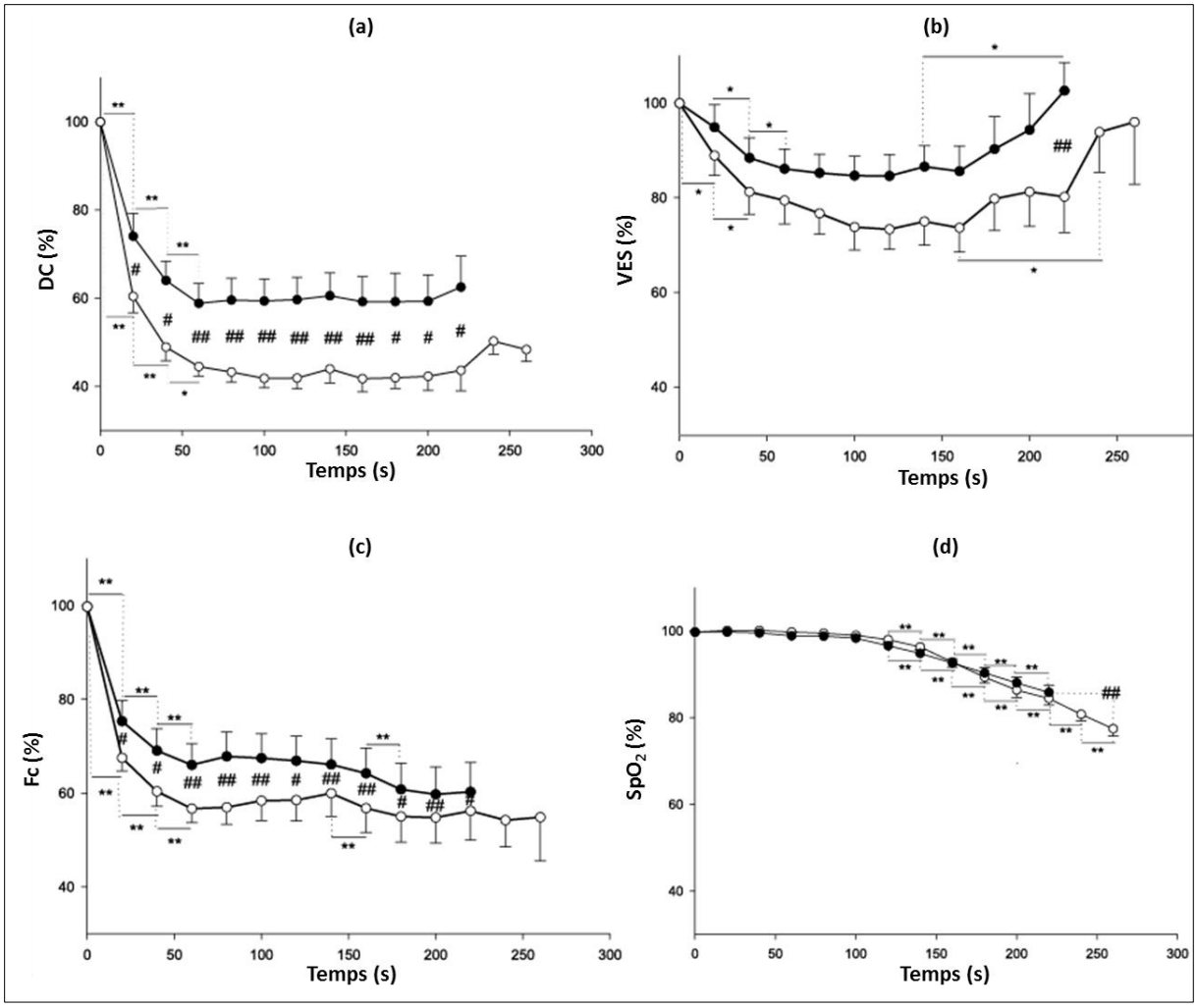


Figure 55 : Comparaison des cinétiques du débit cardiaque (DC, figure 55a), du volume d'éjection systolique (VES, figure 55b), de la fréquence cardiaque (Fc, figure 55c) et de la saturation périphérique en oxygène (SpO_2, figure 55d) entre l'apnée en immersion et l'apnée à l'air libre. * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ vs temps précédent. # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$ entre les deux conditions expérimentales (d'après Costalat *et coll.* 2013).

III.2 Projet BradyModeling (étude 1b)

III.2.1 Cinétiques de la bradycardie et de la saturation périphérique en oxygène

Les cinétiques moyennes de la bradycardie (%Fc), de la saturation périphérique en oxygène (SpO_2) et des interpolations par *spline* cubique de la racine carrée des différences au carré des intervalles R-R successifs (RMSSD) au cours de l'apnée à l'air libre et en immersion sont illustrées dans les **figures 56 et 57**. Dans les deux conditions, les apnées sont séparées en une phase normoxique et une phase hypoxique en fonction du « point d'économie d'O_2 » décrit par le modèle de régression non-linéaire. Au « point d'économie d'O_2 », les Fc exprimées en valeurs absolues sont plus basses lors de l'apnée en immersion que l'apnée à l'air libre (58,7 ± 11,0 vs. 67,9 ± 14,8 bpm, respectivement; $p < 0,001$), alors que les

pourcentages de la SpO_2 sont similaires entre les deux conditions (95,2 ± 3,0 % vs. 95,1 ± 2,1, respectivement ; p = 0,49). Dans les deux conditions, les SpO_2 enregistrées pendant les phases normoxiques des apnées sont supérieures aux SpO_2 enregistrées pendant les phases hypoxiques des apnées (air libre : 97,9 ± 1,0 vs. 89,3 ± 3,6 %, respectivement; p < 0,001 ; immersion : 98,3 ± 1.0 vs. 85,0 ± 3,4 %, respectivement; p < 0,001). Enfin, les temps nécessaires pour atteindre SpO_{2min} après reprise de la ventilation sont similaires entre les deux conditions (11,2 ± 6,6 vs. 16,0 ± 8,0 s, respectivement; p = 0,37).

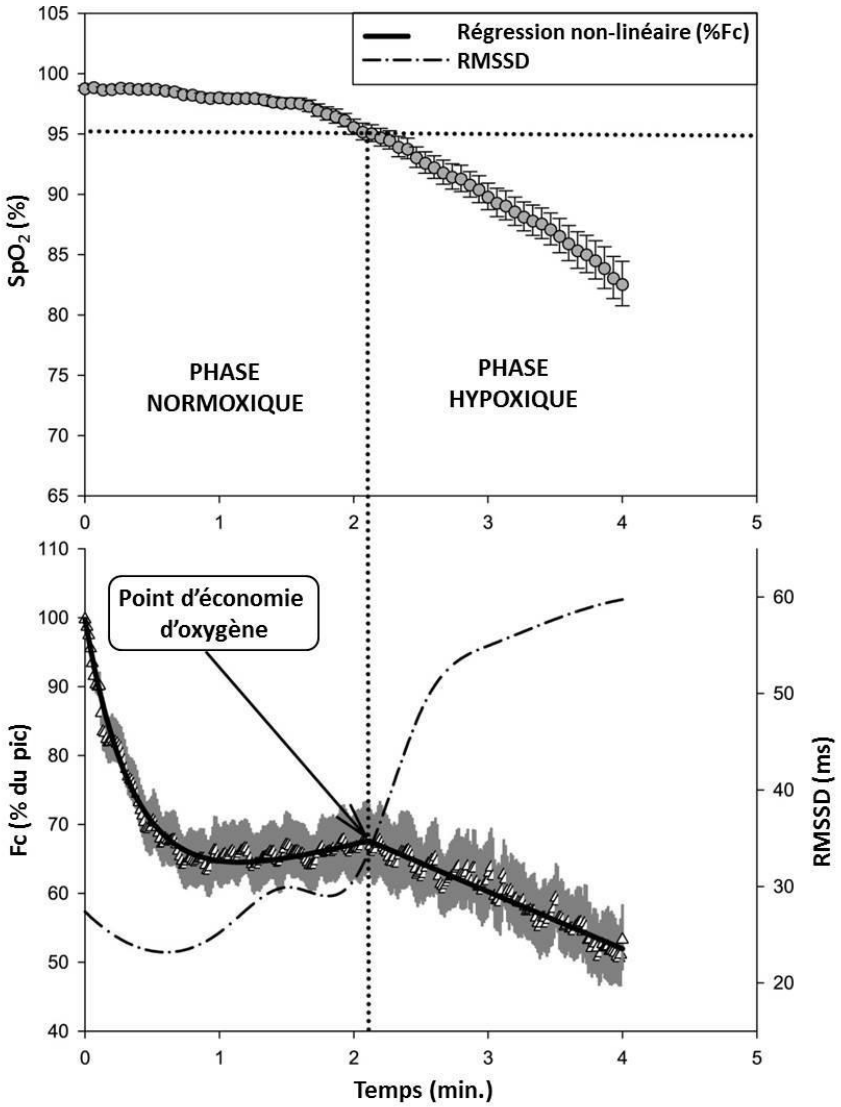


Figure 56 : Cinétiques (moyenne ± erreur-type) de la bradycardie (%Fc), de la saturation périphérique en oxygène (SpO_2) et de l'interpolation par *spline* cubique de la racine carrée des différences au carré des intervalles R-R successifs (RMSSD) au cours de l'apnée à l'air libre. L'apnée est séparée en deux phases par une ligne verticale en pointillé passant par le « point d'économie d'O_2 » (d'après Costalat *et coll.* 2015).

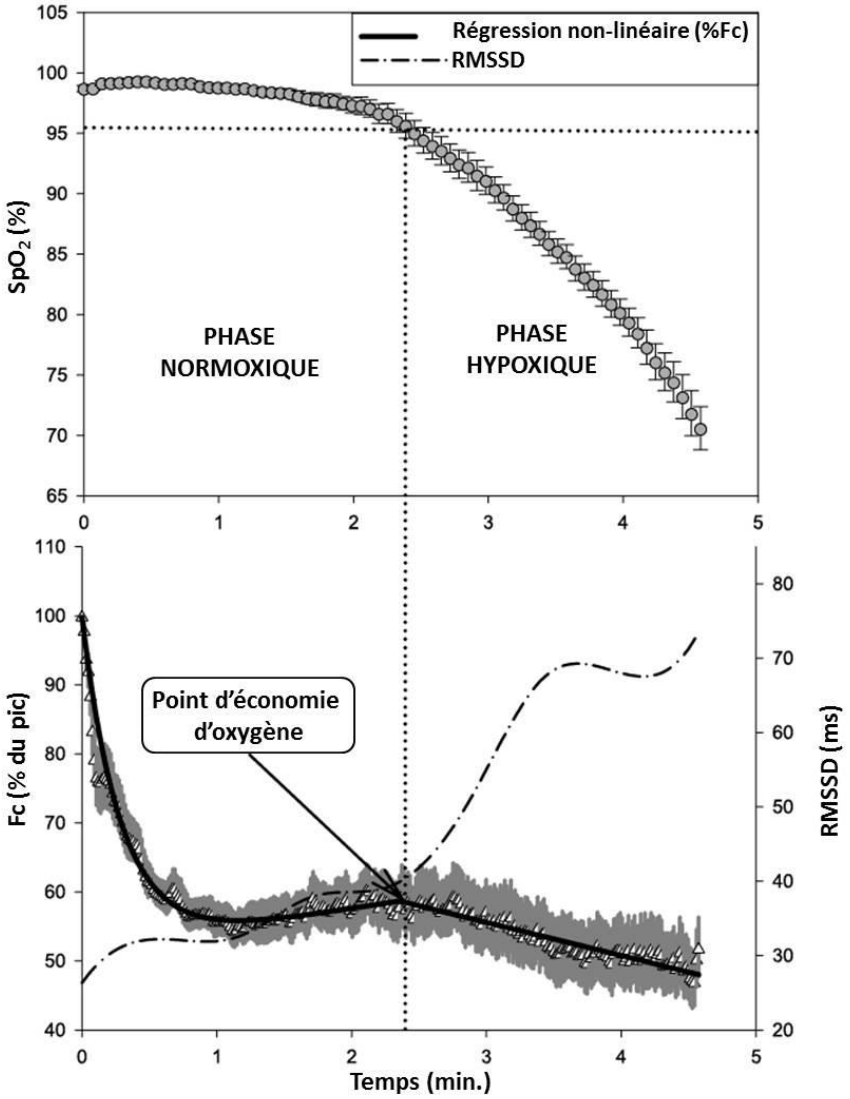


Figure 57 : Cinétiques (moyenne ± erreur-type) de la bradycardie (%Fc), de la saturation périphérique en oxygène (SpO_2) et de l'interpolation par *spline* cubique de la racine carrée des différences au carré des intervalles R-R successifs (RMSSD) au cours de l'apnée en immersion. L'apnée est séparée en deux phases par une ligne verticale en pointillé passant par le « point d'économie d'O_2 » (d'après Costalat *et coll.* 2015).

III.2.2 Qualité d'ajustement des modèles et comparaison au modèle mono-phasique de Caspers

Le modèle non-linéaire tri-phasique appliqué à la cinétique de Fc a toujours convergé avec succès (< 20 itérations, **tableau 11**) tout en satisfaisant le pas d'itération que nous avions fixé à 10^{-9}. Les estimations des paramètres décrivant la cinétique de la bradycardie obtenues à partir du modèle tri-phasique sont présentées dans le **tableau 12,** accompagnées de leurs intervalles de confiance (cf. **annexe 3** pour le calcul des [IC] des paramètres dérivés du modèle, i.e. T_{min} et $A_{\%Fc}$). Les indicateurs statistiques tels que l'AIC, la SCR et la RMSE

dérivés du modèle tri-phasique sont inférieurs à ceux du modèle mono-exponentiel (mono-phasique) dans les deux conditions expérimentales (**tableau 12**). À l'inverse, le $\overline{R}^2$ du modèle tri-phasique est supérieur à celui du modèle mono-exponentiel dans les deux conditions (**tableau 12**).

Tableau 11 : Comparaison statistique de la qualité d'ajustement du modèle mono-phasique et du modèle tri-phasique décrivant la cinétique de la bradycardie dans les deux conditions expérimentales.

Modèles	SCR	$\overline{R}^2$	RMSE	χ^2_{red}	Itérations	AIC
Apnée à l'air libre						
Mono-phasique* (mono-exponentiel)	4984,8	0,75	4,1	16,78	10	851,1
Tri-phasique	396,30	0,98	1,16	1,34	11	95,5
Apnée en immersion						
Mono-phasique* (mono-exponentiel)	2649,3	0,85	2,99	8,92	6	661,5
Tri-phasique	713,0	0,96	1,55	2,41	19	271,8

SCR, somme des carrés des résidus ; $\overline{R}^2$, coefficient de détermination ajusté ; RMSE, racine carrée de la somme des carrés des erreurs ; χ^2_{red}, khi-carré réduit ; AIC, critère d'information d'Akaike. * : modèle proposé par Caspers *et coll.* (2011) lors de courtes apnées (d'après Costalat *et coll.* 2015).

Tableau 12 : Estimation des paramètres de la bradycardie du modèle tri-phasique et leurs intervalles de confiance respectifs.

Paramètres	Apnée (air libre)	Intervalle de Confiance [IC]	Apnée (immersion)	Intervalle de Confiance [IC]
τ (min)	0,36	[0,31 - 0,42]	0,29	[0,25 - 0,32]
A (%)	42,7	[37,37 - 48,12]	48,28	[45,44 - 51,12]
B (%.min^{-1})	5,00	[1,80 - 8,19]	3,08	[1,39 - 4,78]
O_{2bp} (min)	2,1	[1,77 - 2,21]	2,36	[2,10 - 2,61]
C (%.min^{-1})	8,27	[6,87 - 9,67]	4,8	[3,71 - 5,89]
T_{min}	1,15	[1,05 - 1,25][a]	1,16	[1,07 - 1,24][a]
$A_{\%Fc}$	35,17	[34,26 – 36,08][a]	43,82	[43,19 - 44,45][a]

τ, constante de temps de la décroissance exponentielle ; A, amplitude théorique de la décroissance exponentielle ; B, sensibilité de la hausse de la Fc après la décroissance exponentielle ; O_{2bp}, « point d'économie d'O_2 » ; C, sensibilité de la seconde baisse de la Fc après O_{2bp} ; T_{min}, temps auquel la Fc atteint sa valeur la plus basse lors de la décroissance exponentielle ; $A_{\%Fc}$, Amplitude de la décroissance exponentielle réellement observée. [a] : cf. **annexe 3** (d'après Costalat *et coll.* 2015).

III.2.3 Variabilité de la fréquence cardiaque

Les résultats de la variabilité de la fréquence cardiaque (VFC) au cours des apnées sont présentés dans le **tableau 13**. Les ANOVA révèlent des effets significatifs entre le type de phase (normoxique / hypoxique) pour les RMSSD et les DFAα1 dans les deux conditions environnementales ($p < 0,001$, respectivement). La phase de repos à l'air libre a des RMSSD plus élevés que la phase normoxique de l'apnée à l'air libre ($p < 0,05$). En revanche, la phase de repos en immersion a des RMSSD plus élevés que la phase normoxique de l'apnée en immersion ($p = 0,83$) (**tableau 13**). Lors de la phase hypoxique des deux apnées, les RMSSD sont plus élevés que leurs valeurs respectives de repos (apnée air libre : +39,5 ± 31,4 % $p < 0,001$; apnée immersion : +93,9 ± 102 % $p < 0,001$). Les RMSSD calculés pendant les phases hypoxiques des deux apnées sont plus importantes que leurs phases respectives en normoxie (apnée air libre : +109,0 ± 47,8 % $p < 0,001$; apnée immersion : +112,6 ± 55,8 % $p < 0,001$). Les Fc enregistrées lors de la phase hypoxique des deux apnées sont inférieures à celles de leurs phases respectives en normoxie ($p < 0,001$) (**tableau 13**).

Pendant la phase hypoxique des deux apnées, les DFAα1 sont inférieures aux DFAα1 calculées lors des phases de repos (apnée air libre : -13,6 ± 21,4 % ; $p < 0,001$; apnée immersion : -29,2 ± 14,3 %; $p < 0,001$). Les DFAα1 calculées pendant les phases hypoxiques des deux apnées sont inférieures à celles de leurs phases respectives en normoxie (apnée air libre : -18,0 ± 17,4 % ; $p < 0,05$; apnée immersion : -26,0 ± 12,0 % ; $p < 0,001$). Enfin, les ANOVA sur mesures répétées à deux facteurs ne montrent pas d'interactions sur les indices de la VFC entre les deux conditions par rapport au type de phase.

Tableau 13 : Indices de la variabilité de la fréquence cardiaque au cours des périodes de repos et des deux phases de l'apnée.

Indices de la VFC	Repos (air)	Apnée à l'air libre		Repos (immersion)	Apnée en immersion	
		Phase NX	*Phase HX*		*Phase NX*	*Phase HX*
RMSSD (ms)	38,2 ± 13,3	27,5 ± 14,0*	54,3 ± 23,0#	40,1 ± 22,2	32,9 ± 17,0	67 ± 27,9#
DFAα1	1,35 ± 0,16	1,40 ± 0,20	1,16 ± 0,30#	1,46 ± 0,22	1,39 ± 0,22	1,02 ± 0,20#
$\overline{Fc}$ (bpm)	64 ± 7	70 ± 11	58 ± 13§	72 ± 10	65 ± 9	54 ± 12§

Moyenne ± Ecart-type. VFC, variabilité de la fréquence cardiaque ; RMSSD, racine carrée des différences au carré des intervalles R-R successifs ; DFAα1, analyse des fluctuations redressées ; $\overline{Fc}$, fréquence cardiaque moyenne ; NX, normoxique ; HX, hypoxique. *$p < 0,05$ vs périodes de repos respectives. §$p < 0,05$ vs. phases normoxiques respectives #$p < 0,05$ vs. périodes de repos et phases normoxiques respectives.

III.3 Projet FreeHypox (étude 2)

III.3.1 Temps des apnées dynamiques

Les apnéistes réalisent des apnées dynamiques de plus longues durées que les non-apnéistes (77,5 ± 10,2 vs. 51,5 ± 17,2 s, respectivement; $p < 0,05$).

III.3.2 Températures de l'eau et de l'air ambiant

La température de l'air ambiant est équivalente entre le groupe d'apnéistes et le groupe de non-apnéistes (21,9 ± 1,4 vs. 21,3 ± 2,3 °C, respectivement ; $p = 0,46$) ainsi que pour la température de l'eau (15,9 ± 1,3 vs. 16,7 ± 1,7 °C, respectivement ; $p = 0,13$).

III.3.3 Cinétiques hémodynamiques et saturation périphérique en oxygène

Les enregistrements en continu des cinétiques de la Fc, du VES, du DC et de la SpO_2 sont illustrés dans la **figure 58**. La cinétique de la Fc des apnéistes est séparée en une phase normoxique et une phase hypoxique en fonction du « point d'économie d'O_2 » mis en avant par la double régression linéaire (**figure 59**). Les Fc en fin d'apnée des deux groupes sont plus basses que les Fc enregistrées en début d'apnée ($p < 0,05$) (**figure 58a**). Cependant, l'ANOVA mixte à deux facteurs montre une interaction pour la Fc entre les deux groupes au cours du temps ($p < 0,01$). Précisément, les comparaisons multiples révèlent que la chute de la Fc était davantage prononcée chez les apnéistes que chez les non-apnéistes en fin d'apnée (51,5 ± 8,3 vs. 79,1 ± 15,4 bpm, respectivement ; $p < 0,01$). Ceci s'explique par une bradycardie plus prononcée en milieu d'apnée (50-75% du temps d'apnée ; $p < 0,05$) (**figure 58a**). De ce fait, les apnéistes ont atteint des Fc inférieures aux valeurs enregistrées lors de la période de repos (51,5 ± 8,3 vs. 72,8 ± 5,4 bpm, respectivement ; $p < 0,01$), ce qui n'était pas le cas chez les non-apnéistes (79,1 ± 15,4 vs. 80,9 ± 16,3 bpm, respectivement ; $p = 0,37$). En revanche, les VES sont restés inchangés tout au long de l'apnée entre les deux groupes ($p < 0,05$). Par conséquent, seuls les apnéistes ont montré des chutes significatives du DC par rapport au début de l'apnée (-42 ± 16,5 %, $p < 0,01$) (**figure 58c**).

La SpO_2 de fin d'apnée est plus basse que la SpO_2 enregistrée en début d'apnée chez les apnéistes (98,2 ± 1,2 vs. 83,5 ± 9.2 %, $p < 0,01$) et les non-apnéistes (98,3 ± 0,8 vs. 90,8 ± 5,0 %, $p < 0,05$) (**figure 58d**). Les SaO_2 sont similaires entre les deux groupes tout au long de l'apnée, car l'ANOVA mixte à deux facteurs ne montre pas d'interactions entre les groupes et les différents temps d'apnées ($p = 0,14$) (**figure 58d**). La SpO_{2min} enregistrée après la fin de

l'apnée dynamique est semblable entre les apnéistes et les non-apnéistes (80,5 ± 8,1 vs. 89,0 ± 4,7 %, respectivement; p = 0,13).

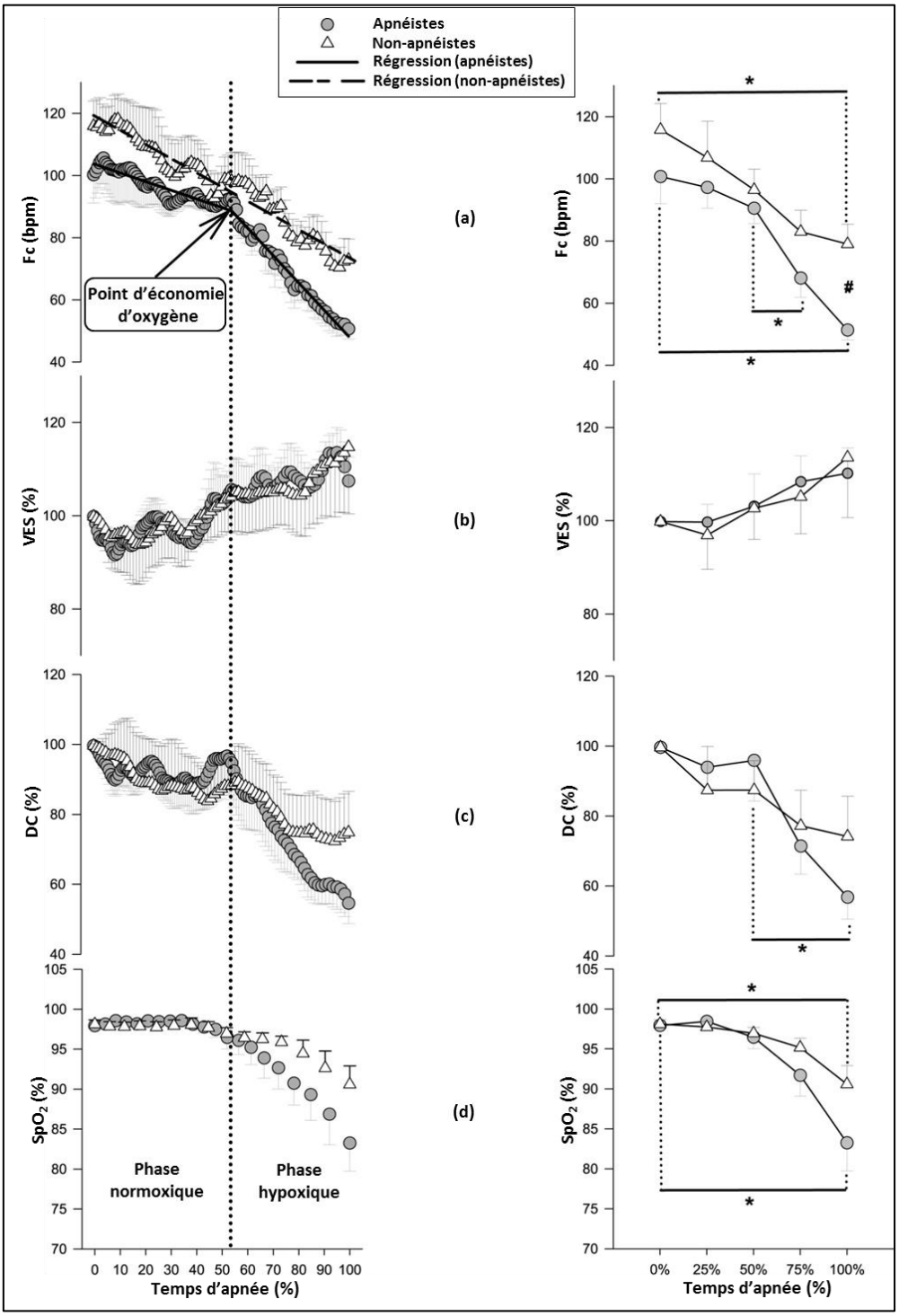


Figure 58 : Comparaison des cinétiques de la fréquence cardiaque (Fc, figure 58a), du volume d'éjection systolique (VES, figure 58b), du débit cardiaque (DC, figure 58c) et de la saturation périphérique en oxygène (SpO_2, figure 58d) entre les apnéistes et les non-apnéistes pendant l'apnée à l'effort. Les apnées sont séparées en deux phases par une ligne verticale en pointillé passant par le « point d'économie d'O_2 ». *p < 0,05 entre les temps d'apnées exprimés en pourcentage. # p < 0,05 entre les deux groupes au temps t.

III.3.4 Modèles linéaires de la bradycardie à l'effort

Les représentations graphiques des modèles, les estimations des paramètres, leurs intervalles de confiances et les coefficients de détermination ajustés ($\overline{R}^2$) propres à chaque groupe sont présentés dans la **figure 59** et le **tableau 14**.

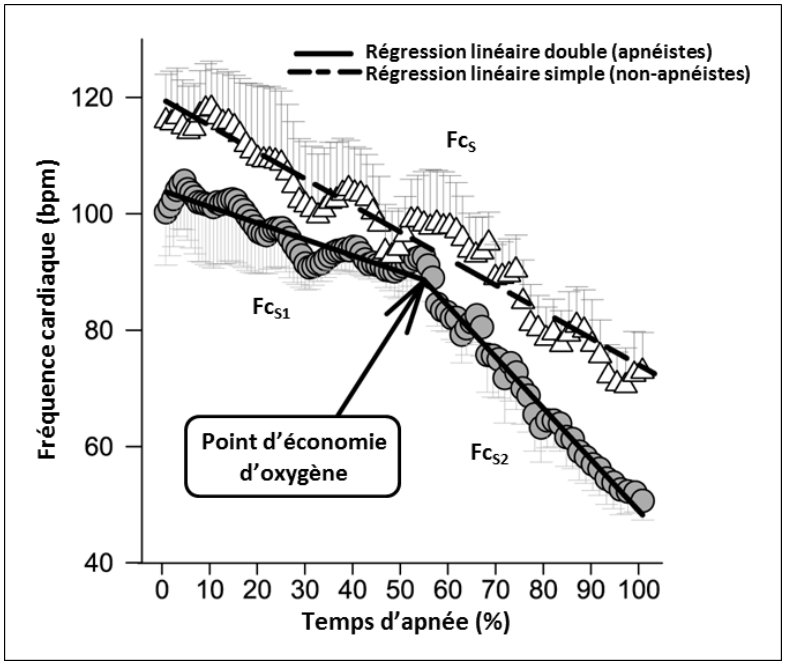


Figure 59 : Représentation graphique des paramètres du modèle de régression linéaire simple (non-apnéistes) et du modèle de régression linéaire double (apnéistes) s'ajustant à la bradycardie pendant l'apnée à l'effort (d'après Costalat *et coll.* article soumis).

La pente de régression s'ajustant à la bradycardie des sujets témoins (Fc_S) est plus accentuée que la pente de régression s'ajustant à la bradycardie des apnéistes en début d'apnée (Fc_{S1}, $p < 0{,}01$; **tableau 14**). À l'inverse, la pente de régression est plus marquée chez les apnéistes après le point d'économie d'O_2 (Fc_{S2}) que chez les non-apnéistes (Fc_S, $p < 0{,}01$; **tableau 14**).

Tableau 14 : Paramètres des régressions linéaires décrivant la cinétique de la Fc lors d'une apnée dynamique chez les apnéistes et les non-apnéistes.

Paramètres	Double régression linéaire ($\bar{R}^2$ = 0,98)		Paramètres	Régression linéaire simple ($\bar{R}^2$ = 0,94)	
	Apnéistes	*[IC]*		*Non-apnéistes*	*[IC]*
Fc_{S1} (bpm.%$^{-1}$)	-0,23*	[-0,32 – -0,14]	**Fc_S (bpm.%$^{-1}$)**	-0,47	[-0,52 – -0,42]
O_{2bp} (%)	53,6	[48,9 – 58,3]	**O_{2bp} (%)**	-	-
Fc_{S2} (bpm.%$^{-1}$)	-0,86$^{\#}$	[-0,96 – -0,78]	**Fc_{S2} (bpm.%$^{-1}$)**	-	-

O_{2bp}, « point d'économie d'O_2 » ; Fc_{S1}, sensibilité de la bradycardie avant O_{2bp} ; Fc_{S2}, sensibilité de la bradycardie après O_{2bp} ; Fc_S, sensibilité de la bradycardie tout au long de l'apnée ; $\bar{R}^2$, coefficient de détermination ajusté ; [IC], intervalle de confiance (95 %). *p < 0,01 Fc_{S1} vs. Fc_S ; $^{\#}p$ < 0,01 Fc_{S2} vs. FC_S.

III.3.5 Cinétiques de l'oxygénation du vaste latéral

Deux sujets (un de chaque groupe) ont été retirés de l'analyse car l'épaisseur du tissu adipeux sous-cutané au niveau du vaste latéral excédait 1,5 cm. Après exclusion, l'épaisseur du tissu adipeux sous-cutané était similaire entre les apnéistes et les non-apnéistes (7,1 ± 4,8 vs 8,6 ± 3,2 mm, respectivement ; p > 0,05).

Les cinétiques de la désoxyhémoglobine ([HHb]), de l'oxyhémoglobine ([HbO_2]), de l'hémoglobine totale ([tHb]) et de la saturation tissulaire en oxygène (StO_2) lors de l'apnée à l'effort sont présentées dans la **figure 60**. Dans les deux groupes, l'[HbO_2] et la StO_2 ont progressivement chuté tout au long de l'apnée (p < 0,05, **figures 60b et 60d**). Les ANOVA mixtes à deux facteurs montrent des interactions entre les groupes et les temps d'apnées (exprimés en pourcentage) pour la [HHb] (p < 0,01) et la [tHb] (p < 0,05). Les comparaisons multiples révèlent que les apnéistes ont une moins forte augmentation de leur [HHb] que celle des non-apnéistes de 75% du temps d'apnée (+20,3 ± 8,8 vs. +30,7 ± 7,9%, respectivement ; p < 0,05) jusqu'à son terme (+24,0 ± 10,1 vs. +39,2 ± 9,6%, respectivement ; p < 0,05 ; **figure 60a**). Parallèlement, à la fin de l'apnée, la [tHb] des apnéistes baisse alors que celle des non-apnéistes reste stable (-7,3 ± 3,2 vs. -3,0 ± 4,7 %, respectivement ; p < 0,05 ; **figure 60c**).

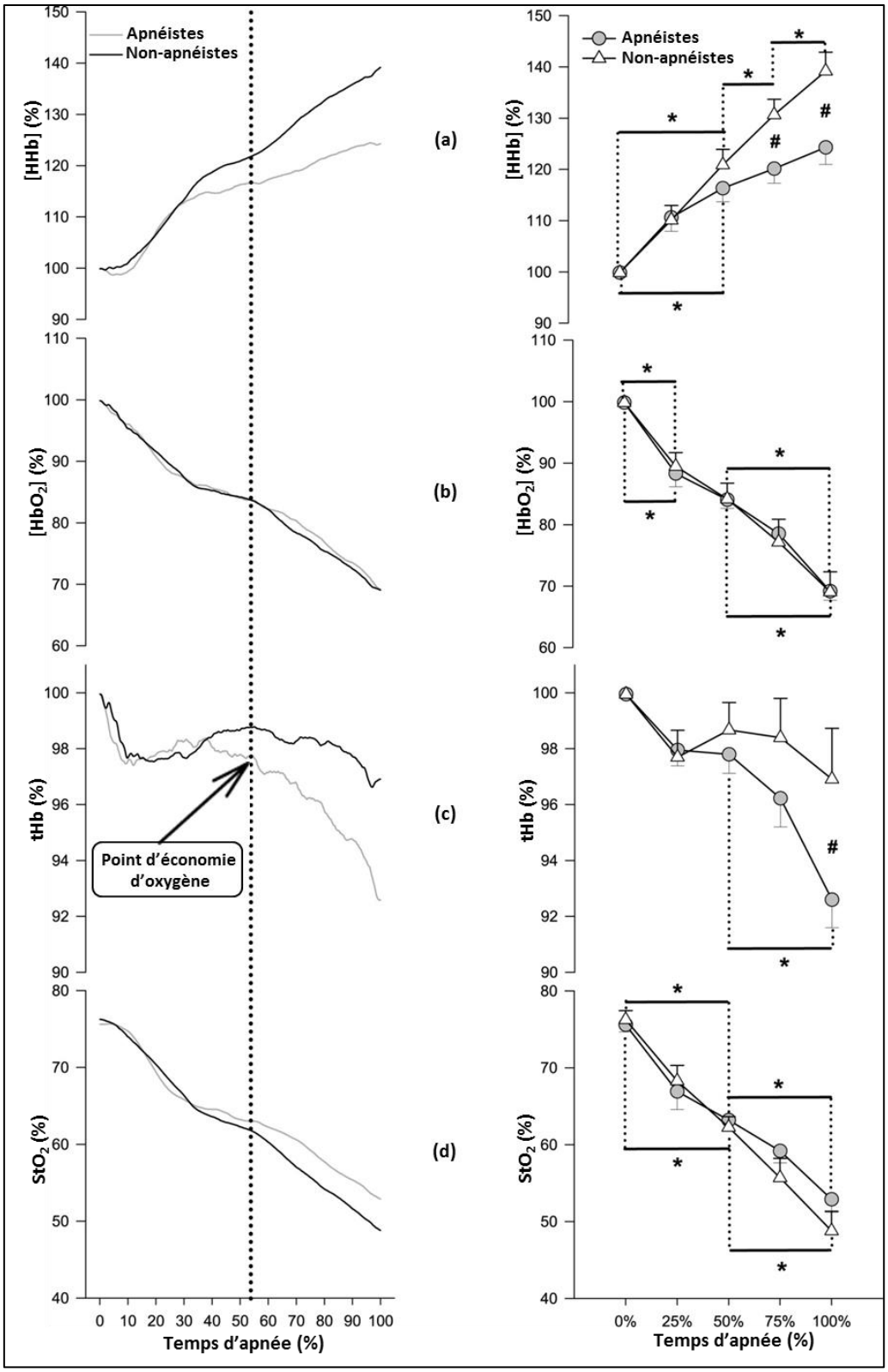


Figure 60 : Comparaison des cinétiques de la désoxyhémoglobine ([HHb]), figure 60a), de l'oxyhémoglobine ([HbO_2], figure 60b), de l'hémoglobine totale ([tHb], figure 60c) et de la saturation tissulaire en oxygène (StO_2, figure 60d) entre les apnéistes et les sujets témoins pendant l'apnée à l'effort. Les apnées sont séparées en deux phases par une ligne verticale en pointillé passant par le « point d'économie d'O_2 ». *p < 0,05 entre les temps d'apnées exprimés en pourcentage. # p < 0,05 entre les deux groupes au temps t.

III.3.6 Lactatémie

L'ANOVA mixte à deux voies révèle une interaction entre les deux groupes et les périodes auxquelles les lactates ont été prélevés ($p < 0,05$). Les comparaisons multiples montrent que les lactates prélevés après l'apnée dynamique sont plus élevés chez les apnéistes que chez les non-apnéistes (3,58 ± 0.82 vs. 2,3 ± 0.74 mmol.L^{-1}, respectivement ; $p < 0,05$). Les lactates prélevés avant l'apnée sont similaires entre les deux groupes (1,75 ± 0,18 vs. 1,5 ± 0,33 mmol.L^{-1}, respectivement ; $p = 0,10$).

III.4 Projet CarbOxy (étude 3)

III.4.1 Test de « Richalet »

III.4.1.1 *Réponses ventilatoires à l'hypoxie*

Au cours des phases hypoxiques du test de « Richalet », les apnéistes et les non-apnéistes désaturent de la même façon au repos (13,8 ± 4,6 vs. 15,3 ± 4,4%, respectivement; $p = 0,22$) et pendant l'effort (27,6 ± 2,7 vs. 31,8 ± 5,5 %, respectivement; $p = 0,09$) (**tableau 15**). En valeur absolue, les apnéistes montrent des hausses plus importantes du $\dot{V}_E$ pendant les phases hypoxiques au repos (RN : 10,0 ± 2,4 L min^{-1}; RH : 14,2 ± 3,4 L.min^{-1}) que chez les non-apnéistes (RN : 12,7 ± 2,3 L min^{-1}; RH : 13,6 ± 2,4 L.min^{-1}) (**tableau 15, figure 61**). En valeur absolue, les apnéistes ont aussi un $\dot{V}_E$ plus élevé lors de l'exercice en hypoxie (EN : 34,3 ± 4,1 L.min^{-1}; EH : 53,0 ± 8,7 L.min^{-1}) que chez les non-apnéistes (EN : 30,6 ± 7,8 L.min^{-1}; EH : 43,1 ± 6,7 L.min^{-1}) (**tableau 15, figure 61**). En pourcentage de la phase normoxique de repos, le $\dot{V}_E$ en hypoxie est plus élevé chez les apnéistes par rapport aux témoins (29,7 ± 7,4 vs. 8,6 ± 8,2 %, respectivement ; $p < 0,05$ entre les deux groupes). En pourcentage de la phase normoxique à l'effort, le $\dot{V}_E$ en hypoxie est plus important chez les apnéistes par rapport aux témoins (34,7 ± 6,4 vs. 29,8 ± 8,6 %, respectivement ; $p < 0,05$ entre les deux groupes). Ces hausses du $\dot{V}_E$ se concrétisent par une augmentation plus importante de l'HVR au repos et à l'effort chez les apnéistes par rapport aux non-apnéistes (respectivement + 68 % et + 31 %).

Tableau 15 : Réponses ventilatoires à l'hypoxie au repos et à l'effort entre le groupe d'apnéistes et de non-apnéistes.

	Apnéistes (n = 7)	**Témoins (n = 7)**
	HVR au repos	
ΔSa_r (%)	13,80 ± 4,60	15,30 ± 4,40
$\Delta \dot{V}_{Er}$ (L.min^{-1})	4,24 ± 1,75	1,21 ± 1,23*
HVR_r (L.min^{-1}.kg^{-1})	0,46 ± 0,19	0,14 ± 0,16**
	HVR à l'effort	
ΔSa_e (%)	27,6 ± 2,70	31,8 ± 5,50
$\Delta \dot{V}_{Ee}$ (L.min^{-1})	18,70 ± 6,10	12,50 ± 2,60*
HVR_e (L.min^{-1}.kg^{-1})	0,92 ± 0,22	0,63 ± 0,54*

Moyenne ± Ecart-type. ΔSa_r, différence de saturation périphérique en oxygène entre la phase hypoxique et normoxique au repos ; $\Delta \dot{V}_{Er}$, différence du débit ventilatoire entre la phase hypoxique et normoxique au repos. HVR_r, réponse ventilatoire à l'hypoxie au repos. ΔSa_e, différence de saturation périphérique en oxygène entre la phase hypoxique et normoxique à l'effort ; $\Delta \dot{V}_{Ee}$, différence du débit ventilatoire entre la phase hypoxique et normoxique à l'effort. HVR_e, réponse ventilatoire à l'hypoxie à l'effort. *$p < 0,05$; **$p < 0,01$ entre les deux groupes (d'après Costalat *et coll.* 2014).

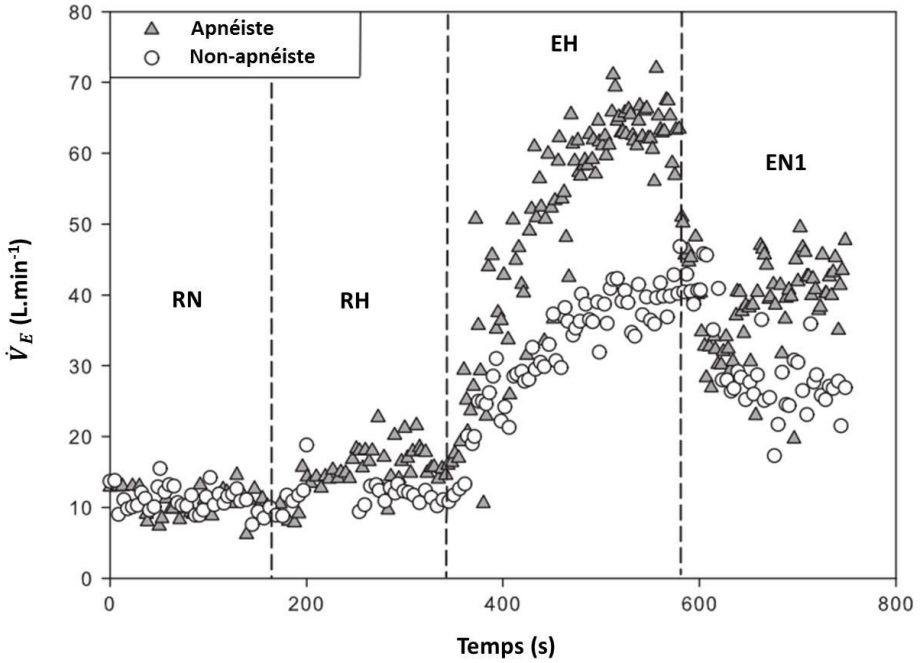


Figure 61 : Evolution du débit ventilatoire (cycle à cycle) au cours des quatre premières phases du test de « Richalet » chez deux sujets représentatifs de chaque groupe. Les lignes verticales en pointillé indiquent les transitions entre chacune des phases du test. RN, repos en normoxie ; RH, repos en hypoxie ; EH, exercice en hypoxie ; EN1, exercice en normoxie ; $\dot{V}_E$, débit ventilatoire (d'après Costalat *et coll.* 2014).

III.4.1.2 *Réponses hémodynamiques à l'hypoxie*

Dans les deux groupes, le DC, la Fc et le VES sont supérieurs aux valeurs respectives en normoxie, exception faite du VES de repos chez les apnéistes (**figure 62a et 62b**). De plus, les ANOVA mixtes à deux facteurs révèlent des interactions (uniquement pendant l'effort) pour le DC et la Fc entre le facteur « groupe » (apnéistes / témoins) et le facteur « condition » (normoxie / hypoxie) ($p < 0,05$). En valeurs absolues, les apnéistes augmentent moins leur Fc à l'effort en hypoxie qu'en normoxie (EN : 103,7 ± 12,3 bpm ; EH : 121,6 ± 14,1 bpm) par rapport aux non-apnéistes (EN : 103,6 ± 8,2 bpm; EH 127 ± 8,1 bpm). De ce fait, les apnéistes ont une hausse moins importante du DC à l'effort en hypoxie en comparaison du DC à l'effort en normoxie (EN : 10,7 ± 2,3 $L.min^{-1}$; EH : 13,2 ± 2,0 $L.min^{-1}$) par rapport aux non-apnéistes (EN : 10,0 ± 1,6 L min^{-1} ; EH : 13,4 ± 1,4 $L.min^{-1}$) (**figure 62b**). En revanche, les valeurs du VES à l'effort sont similaires entre les apnéistes (EN : 104,0 ± 27,9 mL ; EH : 110,3 ± 23,5 mL) et les non-apnéistes (EN : 97,1 ± 12,3 mL ; EH : 104,3 ± 10,3 mL) (**figure 62b**). Enfin, aucune différence n'existe entre les deux groupes concernant les variables suivantes : $HDCR_r$, $HDCR_e$, HCR_r, HCR_e, $HVESR_r$ et $HVESR_e$ (**tableau 16**).

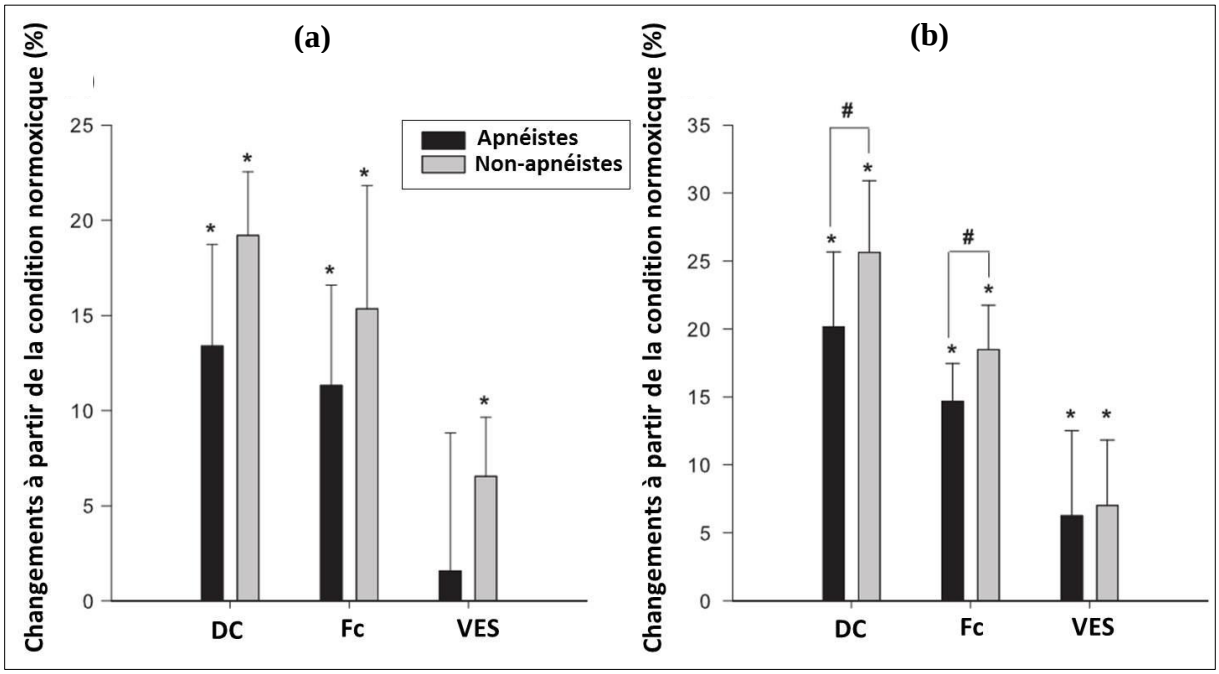


Figure 62 : Evolution des paramètres hémodynamiques lors du repos en hypoxie (figure a) et de l'exercice en hypoxie (figure b) entre les deux groupes. DC, débit cardiaque ; Fc, fréquence cardiaque ; VES, volume d'éjection systolique ; *$p < 0,05$ vs. phase respective en normoxie ; #$p < 0,05$ entre les deux groupes (d'après Costalat *et coll.* 2014).

Tableau 16 : Réponses hémodynamiques à l'hypoxie au repos et à l'effort entre le groupe apnéistes et les témoins.

	Apnéistes (n = 7)	Témoins (n = 7)
	repos	
HCR_r (bpm.%$^{-1}$)	0,77 ± 0,69	0,87 ± 0,23
$HVESR_r$ (mL.%$^{-1}$)	0,08 ± 0,50	0,35 ± 0,14
$HDCR_r$ (L.min^{-1}.%$^{-1}$)	0,08 ± 0,06	0,09 ± 0,02
	effort	
HCR_e (bpm.%$^{-1}$)	0,66 ± 0,12	0,81 ± 0,23
$HVESR_e$ (mL.%$^{-1}$)	0,23 ± 0,23	0,28 ± 0,22
$HDCR_e$ (L.min^{-1}.%$^{-1}$)	0,10 ± 0,02	0,12 ± 0,04

Moyenne ± Écart-type. HCR_r, réponse cardiaque à l'hypoxie au repos ; $HVESR_r$, réponse du volume d'éjection systolique à l'hypoxie au repos ; $HDCR_r$, réponse du débit cardiaque à l'hypoxie au repos ; HCR_e, réponse cardiaque à l'hypoxie à l'effort ; $HVESR_e$, réponse à l'hypoxie du volume d'éjection systolique à l'effort ; $HDCR_e$, réponse à l'hypoxie du débit cardiaque à l'effort.

III.4.1.3 *Intensité de l'exercice*

La charge de travail nécessaire pour atteindre 50% de la fréquence cardiaque de réserve est similaire entre les apnéistes et les non-apnéistes pendant l'EH (80,0 ± 14,4 vs. 77,1 ± 11,1 W, respectivement ; p = 0,41) et pendant l'EN2 (131,4 ± 16,8 vs. 135.7 ± 14,0 W, respectivement ; p = 0,37). Les ΔPO_{rel} sont aussi semblables entre les apnéistes et les non-apnéistes (1,90 ± 0,40 W.%$^{-1}$ vs. 2,00 ± 0,40 p = 0,48).

III.4.2 Test de « Read »

III.4.2.1 *Réponses ventilatoires à l'hypercapnie*

Les réponses ventilatoires à l'hypercapnie (HCVR) sont présentées dans le **tableau 17**. Le test de « Read » ne révèle pas de différence concernant le seuil de recrutement ventilatoire (VRT) ni la sensibilité ventilatoire à l'hypercapnie ($\dot{V}_E$S) (**figure 63**).

Tableau 17 : Résultats des paramètres décrivant les réponses ventilatoires à l'hypercapnie chez les apnéistes et les non-apnéistes.

	Apnéistes (n = 7)	**Non-apnéistes (n = 7)**
	Valeurs de repos	
$PetCO_2$ (mmHg)	36,7 ± 2,2	38,0 ± 2,6
$\dot{V}_E B$ (L.min^{-1})	11,1 ± 3,5	12,4 ± 5,2
V_T (L)	0,90 ± 0,17	0,95 ± 0,25
F_r (cycles.min^{-1})	14,1 ± 3,6	14,1 ± 4,1
	Paramètres de la régression	
VRT (mmHg)	47,87 ± 1,87	48,35 ± 4,16
$\dot{V}_E S$ (L.min^{-1}.mmHg^{-1})	2,85 ± 1,41	1,85 ± 0,93

Moyenne ± Écart-type. $PetCO_2$, pression partielle de fin d'expiration en CO_2 ; $\dot{V}_E B$, débit ventilatoire de repos ; V_T, volume courant ; F_r, fréquence respiratoire ; VRT, seuil de recrutement ventilatoire ; $\dot{V}_E S$, sensibilité ventilatoire au CO_2 (d'après Costalat *et coll.* 2014).

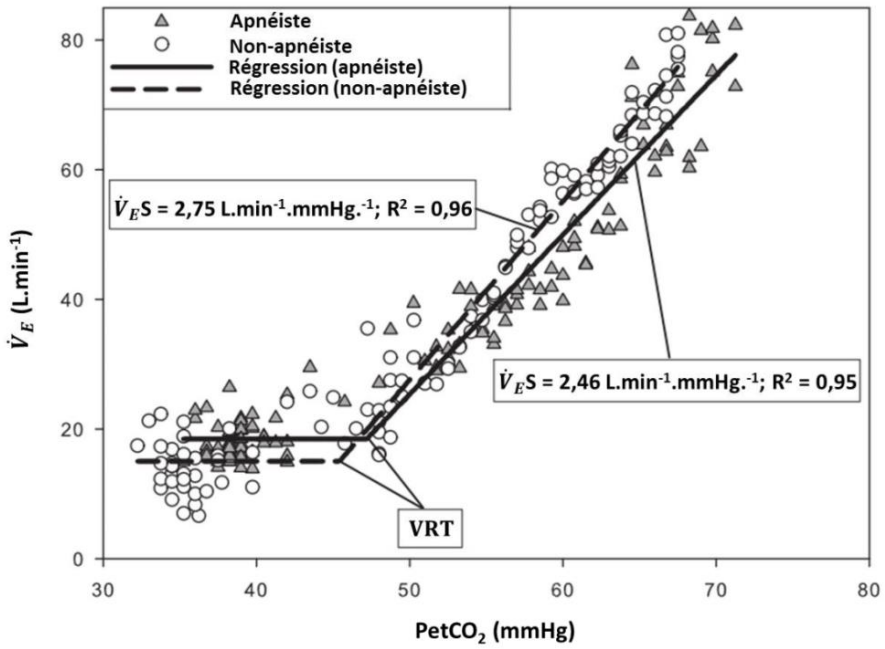


Figure 63 : Réponses ventilatoires (cycle à cycle) à l'hypercapnie hyperoxique chez deux sujets représentatifs de chaque groupe. Le tracé continu (apnéiste) et en pointillé (non-apnéiste) représentent les droites de régression linéaire s'ajustant au $\dot{V}_E$ à mesure que la $PetCO_2$ augmente. VRT, seuil de recrutement ventilatoire ; $\dot{V}_E S$, sensibilité ventilatoire à l'hypercapnie ; $\dot{V}_E$, débit ventilatoire ; $PetCO_2$, pression partielle de fin d'expiration en CO_2 ; R^2, coefficient de détermination (d'après Costalat *et coll.* 2014).

III.4.2.2 *Réponses hémodynamiques à l'hypercapnie*

Dans les deux groupes, les réponses hémodynamiques ne varient pas au cours du test hypercapnique (ns). Par conséquent, l'analyse statistique ne révèle pas de différence entre les deux groupes tout au long du test de « Read » (ns).

III.5 Projet Adeno (étude 4)

III.5.1 Temps des apnées statiques sous-maximales

La médiane et l'étendue interquartile [EI] sont utilisées pour la présentation des résultats du projet Adéno. Les temps des apnées statiques sous-maximales sont similaires entre le groupe d'apnéistes « syncopeurs » et le groupe d'apnéistes « non-syncopeurs » (262 s [225 – 318,5] vs. 225 s [225 – 300], respectivement ; $p = 0,39$). Le nombre d'années d'entraînement à l'apnée était similaire entre les apnéistes « syncopeurs » et « non-syncopeurs » (12,0 [5,5 – 19,5] vs. 19,0 [15 – 22], respectivement ; $p = 0,32$).

III.5.2 Concentrations plasmatiques en adénosine

Les concentrations plasmatiques en adénosine (CPA) dosées au repos (avant l'apnée) sont plus élevées chez les apnéistes (avec ou sans épisodes syncopaux) que les CPA dosées au repos chez les sujets témoins (0,82 µM [0,67 – 0,95]) vs. (0,67 µM [0,53 – 0,76], respectivement, $p < 0,05$; **figure 64a**). Les CPA de repos sont similaires entre le groupe d'apnéistes « non-syncopeurs » et le groupe témoin (0,68 µM [0,63 – 0,86] vs. 0,67 µM [0,53 – 0,76], respectivement ; $p = 0,1$). En revanche, les apnéistes « syncopeurs » ont des CPA de repos supérieures à celles du groupe témoin (0,9 µM [0,82 – 1,12] vs 0,67 µM [0,53 – 0,76], respectivement ; $p = 0,01$).

À la fin de l'apnée, les CPA augmentent chez l'ensemble des apnéistes en comparaison des CPA dosées au repos (2,4 µM [1,7 - 3,4] vs. 0,82 µM [0,67 – 0,95], respectivement, $p < 0,01$; **figure 64a**). La hausse des CPA en fin d'apnée est plus élevée chez le groupe d'apnéistes « syncopeurs » que le groupe d'apnéistes « non-syncopeurs » (3,4 µM [3 - 3,5] vs. 1,7 µM [1,55 – 1,85], respectivement $p < 0,01$; **figure 64b**). Dans les deux groupes d'apnéistes, les CPA sont revenues à leur valeur de repos dans les 10 minutes après l'apnée sous-maximale (T2).

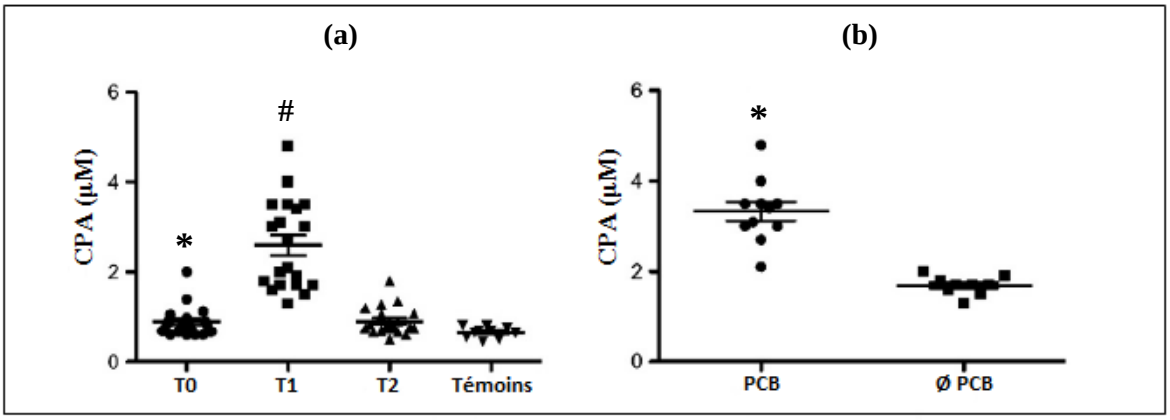


Figure 64 : a : Concentrations plasmatiques en adénosine (CPA) chez les apnéistes avant (T0), à la fin de l'apnée sous-maximale (T1) et après 10 minutes de récupération (T2). $^{*}p < 0,05$ vs. témoins ; $^{\#}p < 0,01$ vs. T0 et T2. **b :** CPA de fin d'apnée entre les deux groupes d'apnéistes (avec ou sans PCB). $^{*}p < 0,05$ entre perte de connaissance brève (PCB) et Ø PCB.

III.5.3 Fréquence cardiaque et saturation périphérique en oxygène

Chez tous les apnéistes, à la fin de l'apnée (T1), la Fc et la SpO_2 sont plus basses que la Fc et la SpO_2 enregistrées pendant la phase de repos (Fc : 70 bpm [60 - 72] vs. 75 bpm [69,5 - 79], respectivement ; $p < 0,05$; SpO_2 : 99 % [98–100] vs. 82% [75–89,7], respectivement ; $p < 0,01$). Pendant cette phase (T1), la Fc est plus basse chez les apnéistes « syncopeurs » que chez les apnéistes « non-syncopeurs » (50 bpm [46 - 60] vs. 70 bpm [57,5 - 77], respectivement ; $p < 0,01$).

III.5.4 Corrélations

Les CPA sont négativement corrélées avec la SpO_2 (**figure 65a**) ainsi qu'avec la Fc enregistrée en fin d'apnée (**figure 65b**).

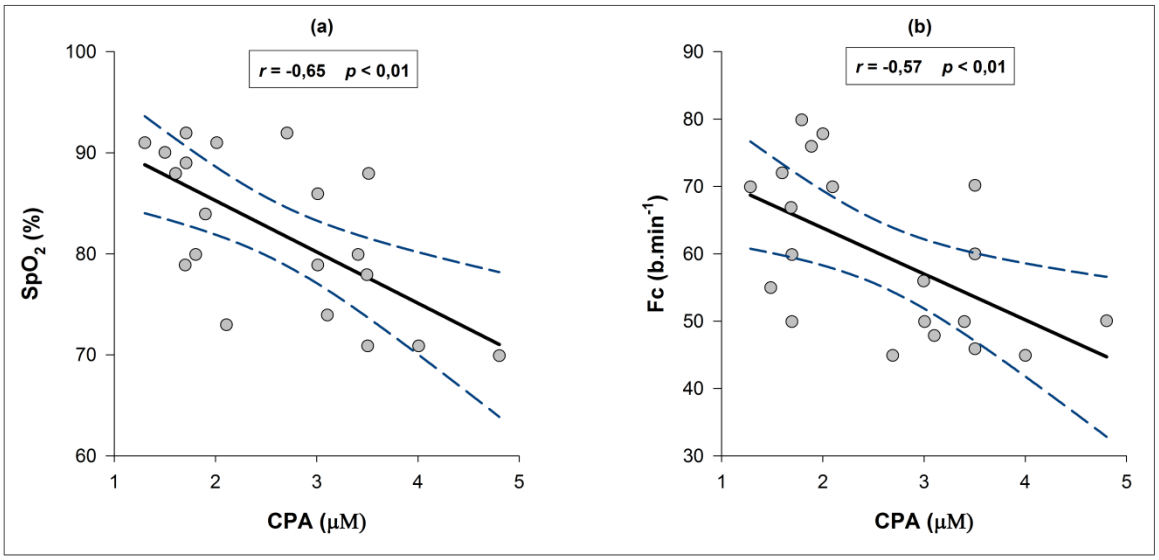


Figure 65 : Corrélation de Pearson (*r*) entre les concentrations plasmatiques en adénosine (CPA) et la saturation périphérique en O_2 (SpO_2) de fin d'apnée (a), ainsi qu'avec la fréquence cardiaque (Fc) de fin d'apnée chez l'ensemble des apnéistes (b). Les droites de régression linéaire sont également présentées (ligne noire continue) accompagnées de leurs intervalles de confiance (ligne bleue en pointillé).

III.6 Projet IHE (étude 5)

III.6.1 Dose hypoxique et cycles d'hypoxie-réoxygénation

Les participants ont été présents à toutes les séances d'HI (sessions *sham* comprises). La moyenne de la SpO_2 de la totalité des séances *sham* était supérieure à la moyenne de la SpO_2 de la totalité des séances d'HI (95,4 ± 1,1 vs. 80,6 ± 0,4%, respectivement ; $p < 0,01$). Au cours des deux semaines d'HI, les participants ont respiré le mélange gazeux hypoxique pendant 72,8 (± 0,6) minutes par séance et ont été confrontés à 15 (± 6) cycles d'hypoxémie-réoxygénation par séance.

III.6.2 Profil glycémique et lipidique

III.6.2.1 *Une seule session d'HI*

Les concentrations artérielles en glucose sont similaires avant et après la session contrôle (5,64 ± 1,12 vs. 5,67 ± 1,20 $mmol.L^{-1}$, respectivement, $p = 0,58$). Les concentrations artérielles en glucose dosées juste après la session d'HI baissent par rapport à celles dosées juste avant la session (5,32 ± 1,03 vs. 6,21 ± 1,62 $mmol.L^{-1}$, respectivement ; $p < 0,05$) (**figure 66**). Les lactates dosés juste après cette même session d'HI sont supérieurs à ceux

dosés avant la session (1,47 ± 0,25 vs. 1,14 ± 0,21 mmol.L^{-1}, respectivement ; $p < 0,01$), ce qui n'était pas le cas pour la session *sham* (1,25 ± 0,22 vs. 1,12 ± 0,21 mmol.L^{-1}, respectivement ; $p > 0,05$). En revanche, il n'y a pas de différence au niveau du cholestérol et des triglycérides. ($p > 0,05$) (**figure 66**).

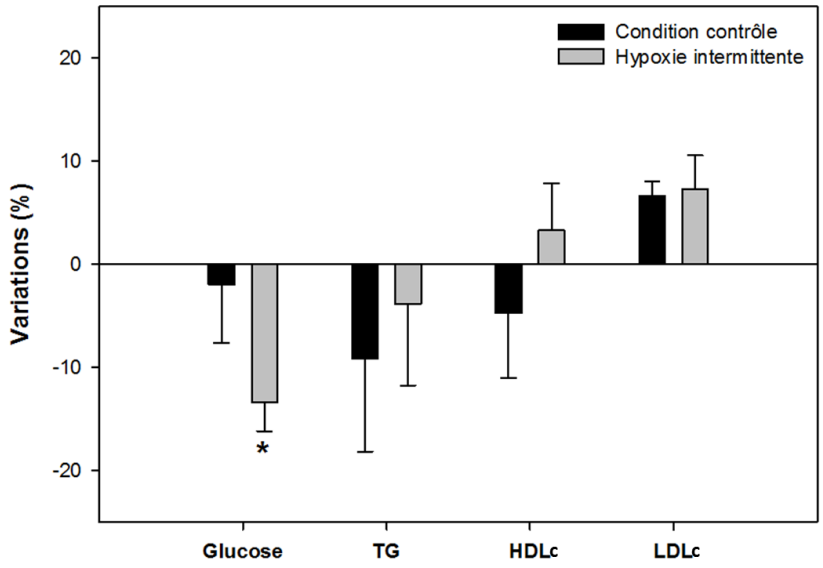


Figure 66 : Variations (moyenne ± erreur-type) du glucose et des paramètres lipidiques après une seule session contrôle (*sham*) ou d'hypoxie intermittente. TG, triglycérides, HDLc, lipoprotéines de haute densité transportant le cholestérol ; LDLc, lipoprotéine de basse densité transportant le cholestérol. * $p < 0,05$ vs. valeurs initiales.

III.6.2.2 *Deux semaines d'HI*

Le test de Friedman montre un effet significatif du type de traitement sur les LDLc et le ratio LDLc / HDLc ($p < 0,05$). Les comparaisons multiples révèlent que la concentration des LDLc dosée après les deux semaines d'HI est inférieure à la concentration des LDLc dosée en début du protocole (2,51 ± 0,60 vs. 3,00 ± 0,68 mmol.L^{-1}, respectivement ; $p < 0,05$) (**figure 67**). Ces comparaisons multiples ont aussi montré que la concentration des LDLc dosée après les deux semaines d'HI était inférieure à la concentration des LDLc dosée après la condition *sham* (2,51 ± 0,60 vs. 2,90 ± 0,82 mmol.L^{-1}, respectivement ; $p < 0,01$) (**figure 67**). Le ratio LDLc / HDLc calculé à la suite des deux semaines d'HI est inférieur à celui calculé après la condition *sham* (2,26 ± 0,70 vs. 2,52 ± 0,66 mmol.L^{-1}, respectivement ; $p < 0,05$) (**figure 67**). En revanche, les analyses statistiques n'ont pas révélé d'effets significatifs entre le type de traitement et l'HDLc, le glucose et les triglycérides ($p > 0,05$).

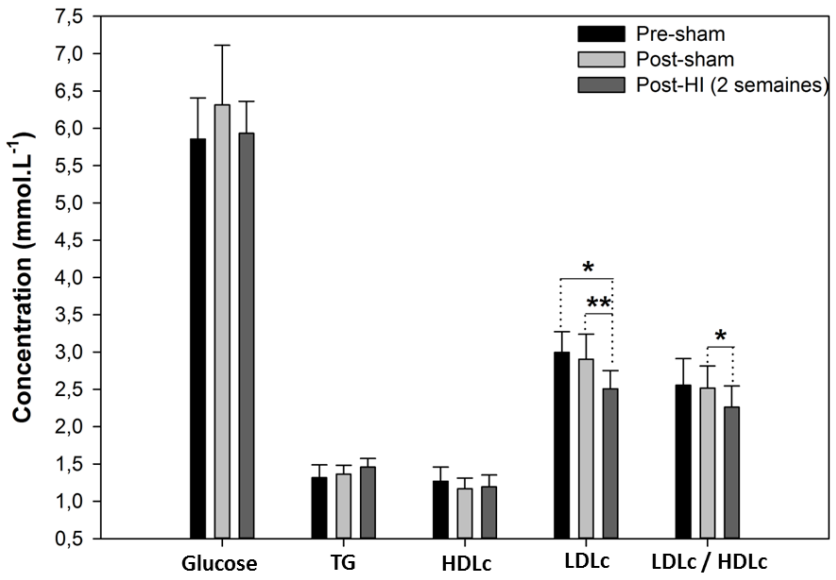


Figure 67 : Concentration (moyenne ± erreur-type) en glucose et des paramètres lipidiques au cours des différentes phases du protocole. TG, triglycérides ; HDLc, lipoprotéines de haute densité transportant le cholestérol ; LDLc, lipoprotéines de basse densité transportant le cholestérol. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ vs. condition correspondante.

III.6.3 Pression artérielle et variabilité de la fréquence cardiaque

Un effet significatif du type de traitement sur la pression artérielle systolique de repos est aussi présent ($p < 0,05$). Les comparaisons multiples révèlent que la pression artérielle de repos diminue après les deux semaines d'HI par rapport au traitement *sham* (**figure 68**). En revanche, les analyses statistiques ne révèlent pas d'effet significatif entre le type de traitement et la pression artérielle systolique, la Fc et les RMSSD ($p > 0,05$).

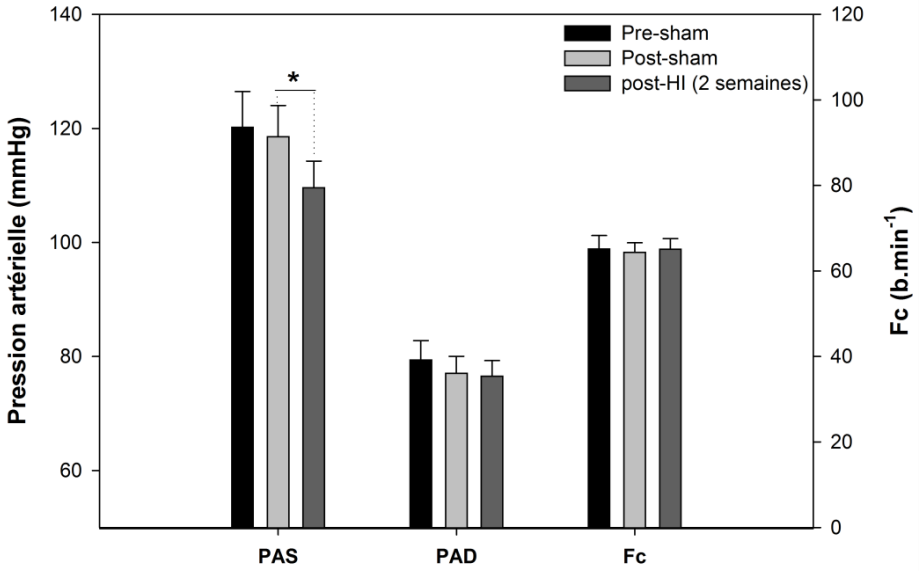


Figure 68 : Evolution (moyenne ± erreur-type) de la pression artérielle systolique (PAS), diastolique (PAD) et de la fréquence cardiaque (Fc) de repos.

PARTIE IV :

DISCUSSION

IV.1 Etudes 1a, 1b (projet PhysioFlow, BradyModeling)

IV.1.1 Discussion

Les principaux résultats de ces études ont mis en avant :

- Des cinétiques hémodynamiques tri-phasiques (Fc et VES) ou bi-phasiques (DC) lors d'une apnée maximale à l'air libre et une apnée maximale en immersion. L'amplitude du réflexe de plongée était majorée en condition réelle de pratique (apnée en immersion complète) en comparaison de la condition laboratoire (apnée à l'air libre) (**étude 1a**).
- La découverte d'un point de rupture dans la cinétique de la bradycardie pendant l'apnée statique que nous avons choisi d'appeler « point d'économie d'O_2 » (**étude 1b**). Ce point de rupture marque par ailleurs une rupture de la balance sympathovagale.

Ces deux études ont pour objectif commun de décrire et de quantifier les manifestations cardio-vasculaires du réflexe de plongée lors d'une apnée statique maximale en immersion et à l'air libre chez des apnéistes. La première phase de l'apnée comprend une chute rapide et prononcée des paramètres hémodynamiques. Celle-ci est ensuite suivie d'une seconde phase dont la caractéristique principale est une stabilisation de l'ensemble des paramètres hémodynamiques enregistrés (**figure 55**). Enfin, la troisième phase de la cinétique correspond à une accentuation de la bradycardie et une augmentation du VES, ce qui stabilise la cinétique du DC jusqu'à la fin de l'apnée (**figure 55**). Les patterns hémodynamiques sont semblables dans les deux conditions bien que le réflexe de plongée soit amplifié pendant l'apnée en immersion par rapport à l'apnée réalisée à l'air libre. L'outil d'analyse que nous avons utilisé pour décrire la cinétique de la bradycardie s'appuie sur une modélisation par régression non-linéaire. Cette technique nous a permis de montrer l'existence d'un point de rupture dans la cinétique de la Fc correspondant au point de départ d'une accentuation de la bradycardie. Par ailleurs, d'après notre modèle, ce point de rupture apparaît à des pourcentages de la SpO_2 identiques entre l'apnée en immersion et l'apnée à l'air libre, bien que les temps d'apnée des apnéistes soient différents entre ces deux conditions (**figures 56 et 57**). Ces observations révèlent donc l'existence d'un événement physiologique auparavant inconnu que nous avons nommé le « point d'économie d'O_2 ».

Il est intéressant de souligner que la SpO_2 correspondant au « point d'économie d'O_2 » coïncide avec le seuil de stimulation des corpuscules carotidiens où sont situés les chémorécepteurs périphériques (González et coll. 1992). Ce seuil est généralement situé

autour d'une PaO_2 de 70 mmHg, ce qui correspond à une SaO_2 avoisinant 94 % (Lahiri et coll. 1978; Gonzalez et coll. 1994). Ainsi, le point de rupture mis en avant par la modélisation a permis de distinguer de manière objective une phase normoxique (NX) et une phase hypoxique (HX) au cours de l'apnée (**figures 56, 57 et 72**). Notons que cette terminologie avait déjà été employée pour séparer l'apnée en deux phases, mais cette distinction était fonction d'un critère subjectif et plutôt flou (baisse de la SpO_2 supérieure à 15%.min^{-1}) (Laurino et coll. 2012). D'après notre modélisation, la cinétique de la Fc se compose de deux patterns bien distincts pendant la phase NX. Nous avons tout d'abord observé une chute exponentielle de la Fc, ce qui est en accord avec le modèle mono-exponentiel initialement proposé pour décrire la bradycardie d'apnées de courte durée (Caspers et coll. 2011). La cinétique se poursuit ensuite par une légère remontée (linéaire) de la Fc jusqu'à atteindre le « point d'économie d'O_2 ». Parallèlement, la bradycardie de la phase NX de l'apnée s'accompagne d'une baisse progressive du VES, se traduisant par une baisse du DC. Plusieurs hypothèses telles que la stimulation des barorécepteurs et des récepteurs pulmonaires ont été évoquées pour tenter d'expliquer les mécanismes à l'origine de la chute exponentielle de la bradycardie en début d'apnée (Foster et Sheel 2005; Lemaître et coll. 2008). Il semblerait toutefois que le baroréflexe n'influencerait finalement pas la bradycardie puisque cette phase s'accompagne d'une hypotension artérielle (Perini et coll. 2008; Perini et coll. 2010; Sivieri et coll. 2015). L'apnée *per se* et la stimulation des récepteurs pulmonaires (sensibles à l'étirement) semblent être les hypothèses les plus probables pour expliquer la bradycardie d'origine vagale lors d'une apnée sans immersion du visage (Caspers et coll. 2011). Pourtant, les RMSSD de la phase NX de l'apnée à l'air libre et de l'apnée en immersion ne sont pas plus élevées que leur condition initiale respective (respiration sur tuba) (**tableau 13**). Cette dissociation entre le comportement des RMSSD et la chute importante de la Fc a aussi été observée en début d'apnée chez des apnéistes (Lemaître et coll. 2008; Kiviniemi et coll. 2012). Ces résultats peuvent paraître surprenants, car les RMSSD sont sensés être corrélés à l'activité vagale du nœud sinusal (Goldberger et coll. 2001). L'arythmie sinusale respiratoire (i.e. les fluctuations de l'activité vagale) dépend d'interactions complexes entre le système cardiovasculaire et le système respiratoire (Spyer 1990). La « suppression » de la composante respiratoire, une caractéristique propre de l'apnée, est probablement à l'origine de la dissociation entre les RMSSD et la bradycardie car l'arythmie sinusale respiratoire est grandement influencée par le volume courant et la fréquence respiratoire (Grossman et Taylor 2007; Ritz 2009).

Dans les deux conditions expérimentales (air libre / immersion), le passage de la phase NX à la phase HX de l'apnée marque une nouvelle chute de la Fc. L'accentuation de la bradycardie coïncide précisément avec une modification de la balance sympathovagale cardiaque, comme l'attestent les indices de la VFC du domaine temporel (RMSSD) et non-linéaire (DFAα1) (**tableau 13**). Lors de la phase HX de l'apnée, les hausses des RMSSD sont similaires aux observations passées chez des apnéistes très entraînés (Lemaître et coll. 2008; Kiviniemi et coll. 2012). Au repos, respirer un mélange gazeux hypoxique entraîne une modification rapide de la balance sympathovagale (Buchheit et coll. 2004a), provoquant une tachycardie (Naeije 2010) et une augmentation du débit ventilatoire (Teppema et Dahan 2010). Lorsque la respiration est interrompue, il a été démontré chez l'animal qu'un mécanisme inverse se produisait avec l'hypoxie : la stimulation des chémorécepteurs périphériques déclencherait une augmentation du tonus vagal et donc un effet bradycardisant (de Burgh Daly et coll. 1988; Chapleau et Sabharwal 2011). Chez l'être humain, des études ont montré que l'inhalation d'un mélange gazeux hyperoxique juste avant l'apnée diminuait substantiellement la bradycardie en comparaison de l'inhalation d'un mélange gazeux normoxique (**figure 69**) (Moore et coll. 1973; Lindholm et coll. 2002). Les auteurs en ont ainsi déduit que l'hypoxémie *per se* renforçait les manifestations cardiovasculaires du réflexe de plongée (**figure 72**), ce qui expliquerait la hausse des RMSSD et la seconde chute de la Fc en aval du « point d'économie » (**figures 56 et 57**).

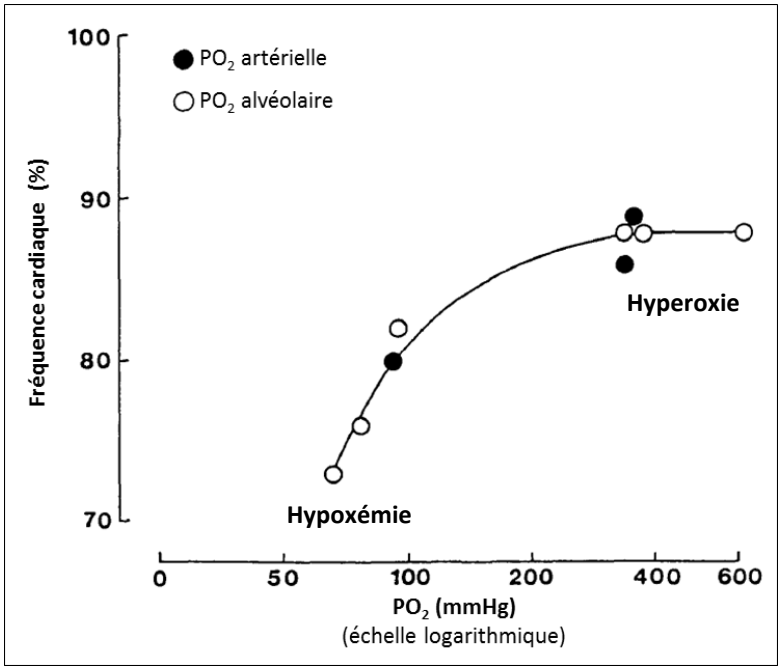


Figure 69 : Effets de l'hypoxémie et de l'hyperoxie sur la bradycardie (d'après Gooden *et coll.* 1994).

Cependant, il ne faut pas oublier que l'apnée entraîne, en parallèle de l'hypoxémie, une augmentation progressive de la $PaCO_2$ (Ferretti 2001), un phénomène qui pourrait avoir influencé indirectement l'accentuation de la bradycardie. En effet et bien que nous ne l'ayons pas mesurée, l'hypercapnie déclenche une stimulation réflexe de la commande ventilatoire à l'origine des premières contractions involontaires du diaphragme pendant l'apnée (Agostoni 1963; Lin et coll. 1974). Ces auteurs ont en effet identifié un seuil de pression alvéolaire en gaz carbonique à partir duquel l'activité électrique du diaphragme était de nouveau détectable. Plus récemment, des travaux ont démontré que les contractions du diaphragme favorisaient une augmentation du retour veineux et du VES pendant l'apnée statique (**figure 70**) (Palada et coll. 2008), un phénomène que nous avons également pu observer pendant l'apnée à l'air libre et en immersion (**figure 55b**) (Costalat et coll. 2013).

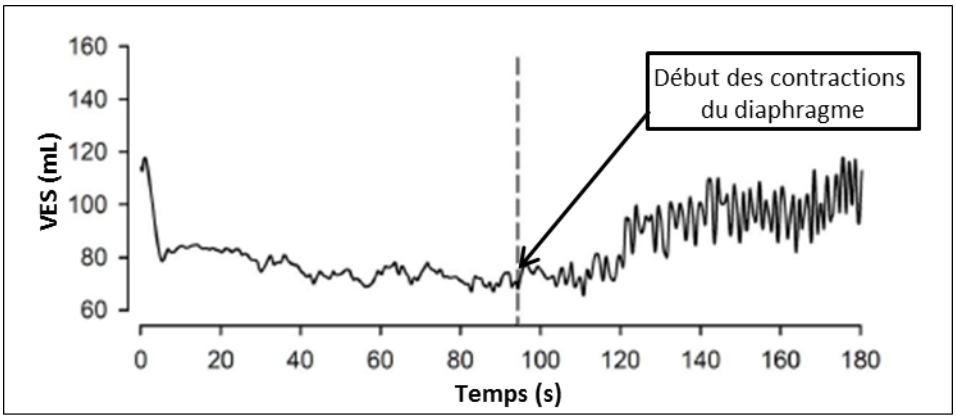


Figure 70 : Evolution du volume d'éjection systolique (VES) au cours d'une apnée statique réalisée par un apnéiste. Les premières contractions du diaphragme sont indiquées par le tracé vertical en pointillé et celles-ci apparaissent généralement en milieu d'apnée (d'après Cross *et coll.* 2014).

Toutes ces modifications hémodynamiques augmentent la perfusion cérébrale (Dujic et coll. 2009; Cross et coll. 2014), garantissant ainsi un apport en O_2 au cerveau suffisamment important dans la seconde moitié de l'apnée (Dujic et coll. 2011). Pendant la phase HX de l'apnée, l'analyse de la VFC dans le domaine non-linéaire (DFAα1) montre que la hausse du tonus vagal cardiaque est associée à une augmentation du tonus sympathique périphérique. Tulppo *et coll.* avaient en effet démontré que l'activité sympathique était inversement corrélée au DFAα1 (Tulppo et coll. 2005). Par conséquent, la chute du DFAα1 pendant la phase HX de l'apnée confirme certains travaux rapportant une élévation substantielle de la pression artérielle moyenne et/ou de l'activité nerveuse sympathique musculaire (ANSM) pendant la

seconde moitié d'une apnée réalisée par des apnéistes confirmés (**figure 71**) (Perini et coll. 2008; Guaraldi et coll. 2009; Heusser et coll. 2009; Perini et coll. 2010).

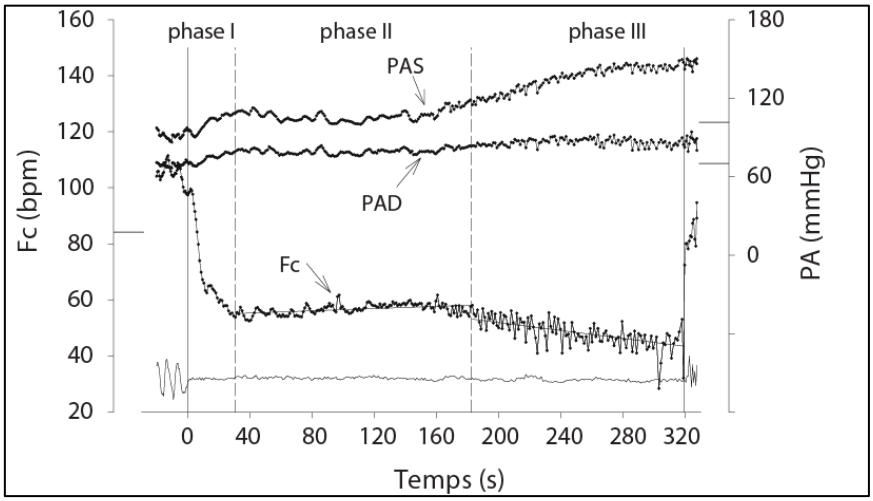


Figure 71 : Cinétiques de la fréquence cardiaque (Fc), de la pression artérielle diastolique (PAD) et de la pression artérielle systolique (PAS) pendant une apnée réalisée par un apnéiste. Une hausse importante de la PAS est détectable à partir de la phase III. PA : pression artérielle (d'après Perini *et coll.* 2008).

Outre leurs effets sur l'oxygénation cérébrale, l'augmentation progressive du VES induite par la hausse de la $PaCO_2$ ainsi que l'hyperactivité sympathique périphérique favoriseraient une hypertension artérielle, ce qui déclencherait une bradycardie d'origine vagale *via* la stimulation des barorécepteurs (Fagoni et coll. 2015; Sivieri et coll. 2015). Par conséquent, l'hypercapnie induite par l'apnée pourrait aussi constituer un facteur explicatif (indirect) à l'origine de l'accentuation de la bradycardie en fin d'apnée (**figure 72**).

Enfin, le « point d'économie d'O_2 » est apparu plus tardivement en condition réelle de pratique (immersion) en raison d'une décroissance exponentielle de la Fc plus prononcée pendant l'apnée en immersion que pendant l'apnée à l'air libre. Les paramètres du modèle ont en effet révélé une plus petite constante exponentielle (τ) et une plus grande amplitude de la Fc ($A_{\%Fc}$) quand l'apnée était réalisée en immersion (**tableau 12**). Ainsi, en début d'apnée, le décalage vers la droite du « point d'économie d'O_2 » pendant l'immersion (**figure 73**) démontre que l'économie des stocks en O_2 est augmentée en condition réelle de pratique de l'apnée, tout comme lors de l'apnée simulée avec immersion du visage (Foster et Sheel 2005). L'immersion du visage (stimulation de la voie trigéminée) et la pression hydrostatique exercée sur l'apnéiste seraient donc les deux facteurs à l'origine de l'accentuation de la bradycardie pendant l'apnée en immersion. En effet, les effets de l'immersion dans un environnement proche de nos conditions expérimentales, i.e. 20 minutes d'immersion à une

température supérieure à 25°C sont normalement associés à une augmentation de l'activité vagale par stimulation des barorécepteurs (Mourot et coll. 2008). Toutefois, et bien que nous n'ayons pas enregistré en temps réel la pression artérielle, il semble peu probable que la pression hydrostatique ait influencé la bradycardie. En effet, lors de la phase de repos en immersion (respiration tuba), la Fc, le VES et les RMSSD étaient similaires à la période de repos à l'air libre (**tableaux 10 et 13**). La pression hydrostatique n'aurait donc pas affecté le retour veineux ni le VES. La bradycardie d'origine vagale par stimulation des barorécepteurs n'a donc pas pu être observée pendant la phase de respiration tuba. Il demeure donc peu probable qu'un effet bradycardisant lié à la pression hydrostatique soit soudainement apparu pendant l'apnée statique. Dans leur étude en 2008, Mourot *et coll.* ont choisi la position verticale pour comparer les effets de l'immersion (jusqu'au cou) sur les réponses hémodynamiques, ce qui n'est pas le cas de notre étude (position allongée sur le ventre). La station debout accentue le contraste entre l'air et le milieu aquatique car la pression hydrostatique exercée par l'eau s'oppose à l'accumulation de sang liée à la gravitation en position debout (Mourot et coll. 2008). La position allongée adoptée par les apnéistes pendant la phase de repos des deux conditions expérimentales pourrait avoir minimisé les effets de la pression hydrostatique sur le retour veineux, ce qui expliquerait nos résultats en contradiction avec l'étude de Mourot *et coll.* De plus, la combinaison de plongée intégrale portée par les apnéistes pourrait avoir atténué les effets de l'environnement aquatique sur le retour veineux et *in fine* la stimulation des barorécepteurs. Finalement, notre étude tend à montrer que la première bradycardie de la phase NX de l'apnée serait principalement liée à l'immersion du visage et la stimulation de la voie trigéminée.

Pourtant, alors que l'immersion (du visage) favorise l'économie d'O_2 pendant la phase NX de l'apnée, cela n'est pas le cas de la phase HX de l'apnée. En effet, les cinétiques de la SpO_2 étaient semblables entre les deux conditions pendant la phase HX de l'apnée. Lors de cette même phase HX, la cinétique de la bradycardie était sensiblement plus prononcée pendant l'apnée à l'air libre que pendant l'apnée en immersion (paramètre C du modèle) (**tableau 12**). L'observation d'une plus forte bradycardie lors de la seconde moitié de l'apnée à l'air libre par rapport à la seconde moitié de l'apnée en immersion peut alors paraître paradoxale. Pourtant, il est probable que ce phénomène soit lié à une saturation de l'activité parasympathique pendant la phase HX de l'apnée en immersion. Buchheit *et coll.* ont observé une baisse de la VFC chez des athlètes possédant une Fc de repos basse (Buchheit et coll. 2004b), un phénomène qui serait étroitement lié à une saturation des récepteurs cholinergiques du nœud sinusal (Plews et coll. 2013). Dans notre étude, nous avons remarqué

que la Fc au point « d'économie d'O_2 » d'une apnée en immersion est inférieure à celle d'une apnée à l'air libre. Ainsi, il est possible que l'activité parasympathique au « point d'économie d'O_2 » soit déjà très proche du seuil de saturation des récepteurs cholinergiques au cours de l'apnée en immersion. Ceci permettrait d'expliquer pourquoi nous avons retrouvé une amplitude de bradycardie et une économie d'O_2 plus faibles au cours de la phase HX de l'apnée en immersion (**figure 73**).

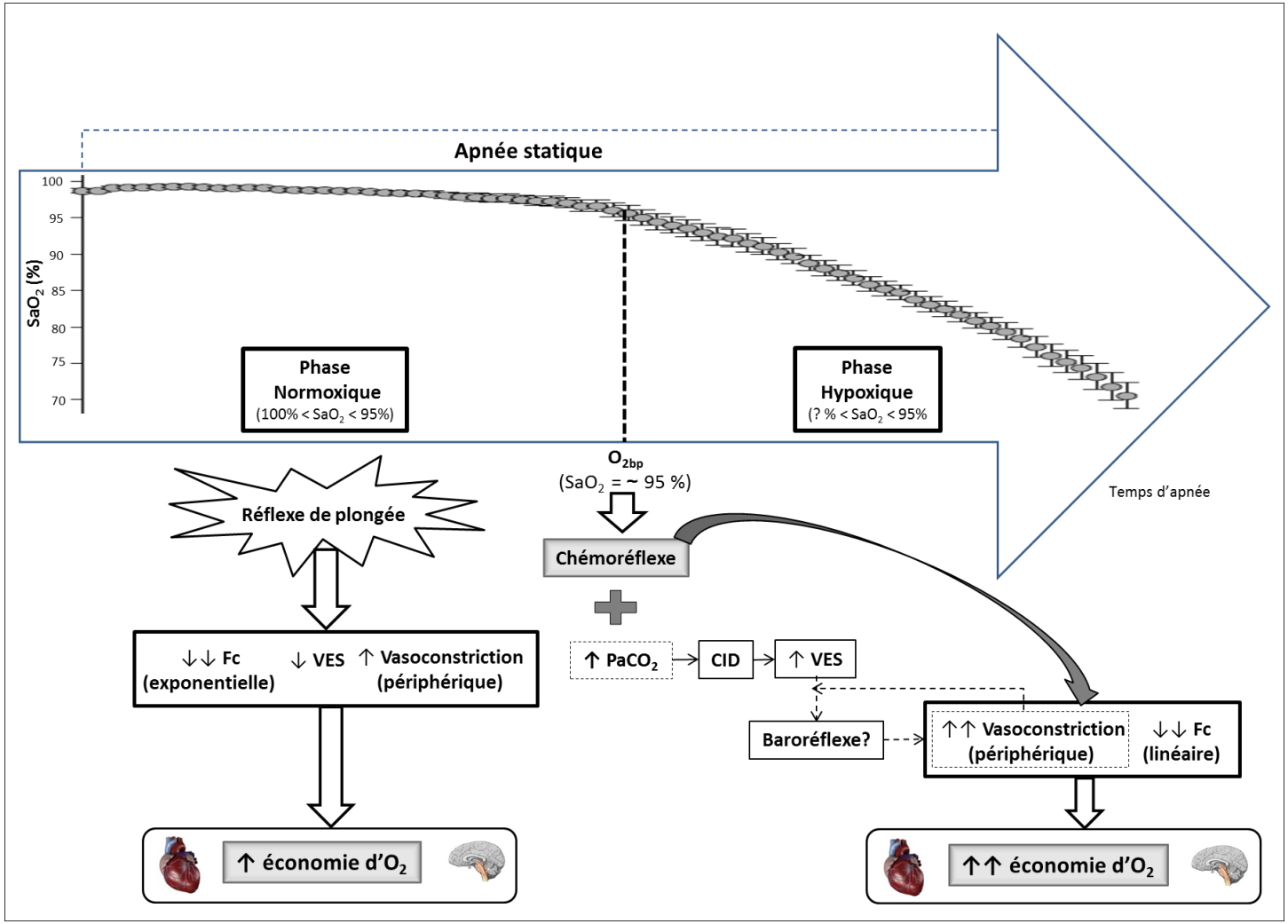


Figure 72 : Modifications hémodynamiques et leurs répercussions sur l'économie d'O_2 au cours d'une apnée statique hors de l'eau chez les apnéistes. Ce schéma intègre le nouveau concept de « point d'économie d'O_2 » (O_{2bp}) qui sépare l'apnée en une phase nomoxique et une phase hypoxique. SaO_2, saturation artérielle en O_2 ; $PaCO_2$, pression partielle artérielle en CO_2 ; Fc, fréquence cardiaque ; VES, volume d'éjection systolique ; CID, contractions involontaires du diaphragme.

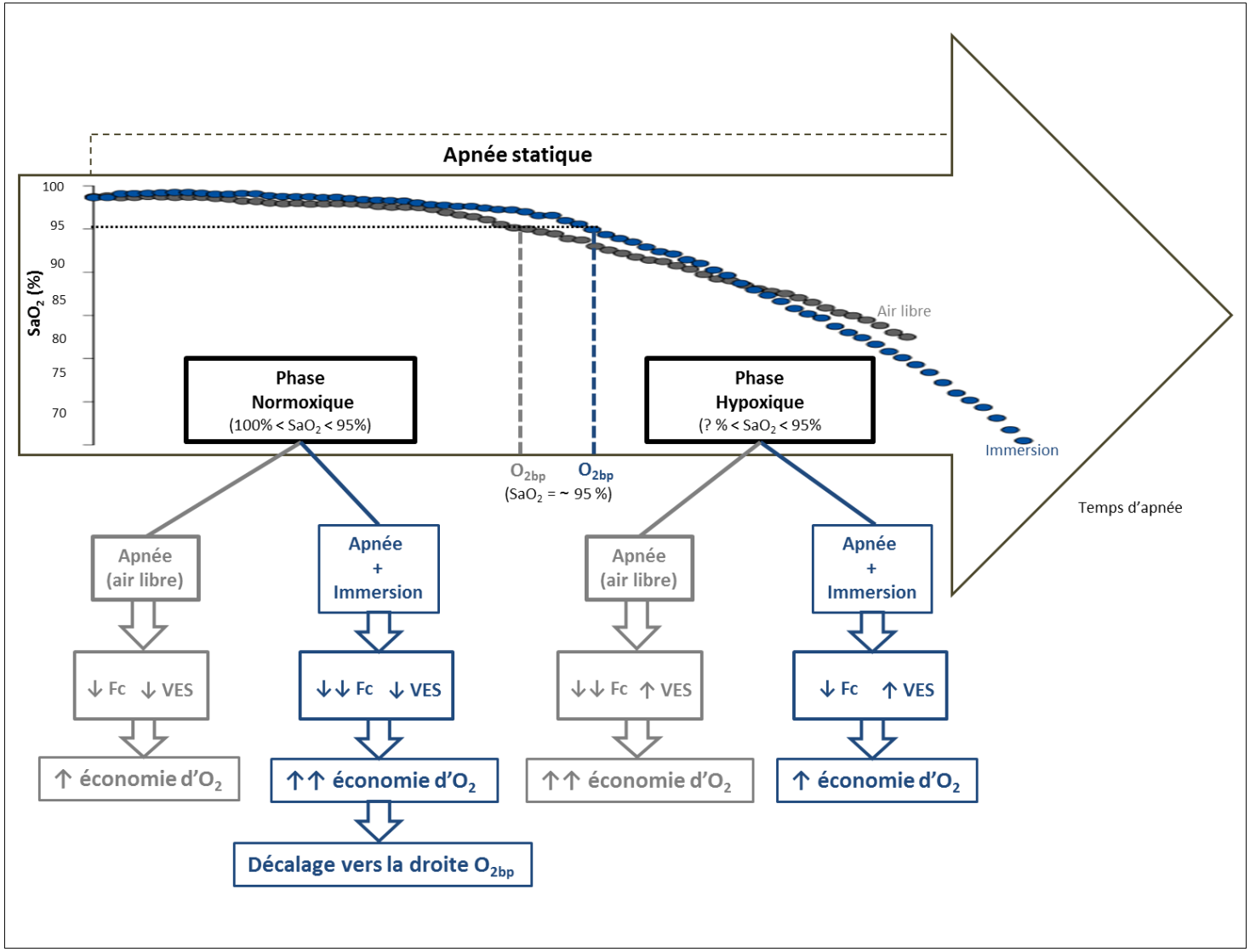


Figure 73 : Effets de l'immersion sur le « point d'économie d'O_2 » ainsi que sur l'économie d'O_2 pendant l'apnée statique chez les apnéistes. Fc, fréquence cardiaque ; VES, volume d'éjection systolique ; O_{2bp}, « point d'économie d'O_2 ».

Les paramètres statistiques rendant compte de la qualité d'ajustement de la cinétique révèlent que le modèle tri-phasique est suffisamment pertinent pour décrire la bradycardie. En effet, des indices statistiques tels que le $\bar{R}^2$, le χ^2_{red} et la RMSE ainsi que le critère d'information d'Akaike (AIC) ont tous démontré que notre modèle était plus adapté que le modèle mono-exponentiel (**tableau 11**) (Motulsky et Ransnas 1987). De plus, celui-ci semble d'une grande robustesse car le nombre d'itérations nécessaires pour atteindre les critères de convergence est relativement faible (< 20), tout en sachant que les paramètres initiaux ont été contraints dans un large éventail de normes physiologiques (cf. **annexe 2**). D'autre part, ce modèle permet également d'intégrer les modifications hémodynamiques (paramètres O_{2bp} et C du modèle) en lien avec la situation hypoxémique à laquelle les apnéistes sont fréquemment confrontés. Ainsi, outre sa capacité à quantifier la bradycardie, notre modèle est également porteur de sens physiologique car celui-ci traduirait les effets de l'hypoxémie sur la régulation du système nerveux autonome et ses répercussions sur la cinétique de la bradycardie de plongée (**figure 74**). Dans leur étude, Caspers *et coll.* ont obtenu à partir de leur modèle mono-exponentiel des R^2 > 0,94 (apnée avec immersion du visage) et > 0,93 (apnée sans immersion) (Caspers et coll. 2011). Sachant que l'expression algébrique de la première composante de notre modèle est relativement proche de celle du modèle de Caspers *et coll.*[15], ce dernier demeure tout de même apte à quantifier la bradycardie tant que le « point d'économie d'O_2 » n'a pas été atteint (**figure 74**).

[15] $\%Fc(t) = Fc_{min} + A_{\%Fc} \cdot e^{\left(\frac{-t}{\tau}\right)}$ (cf. **figure 10**, page 28 pour la représentation graphique des paramètres).

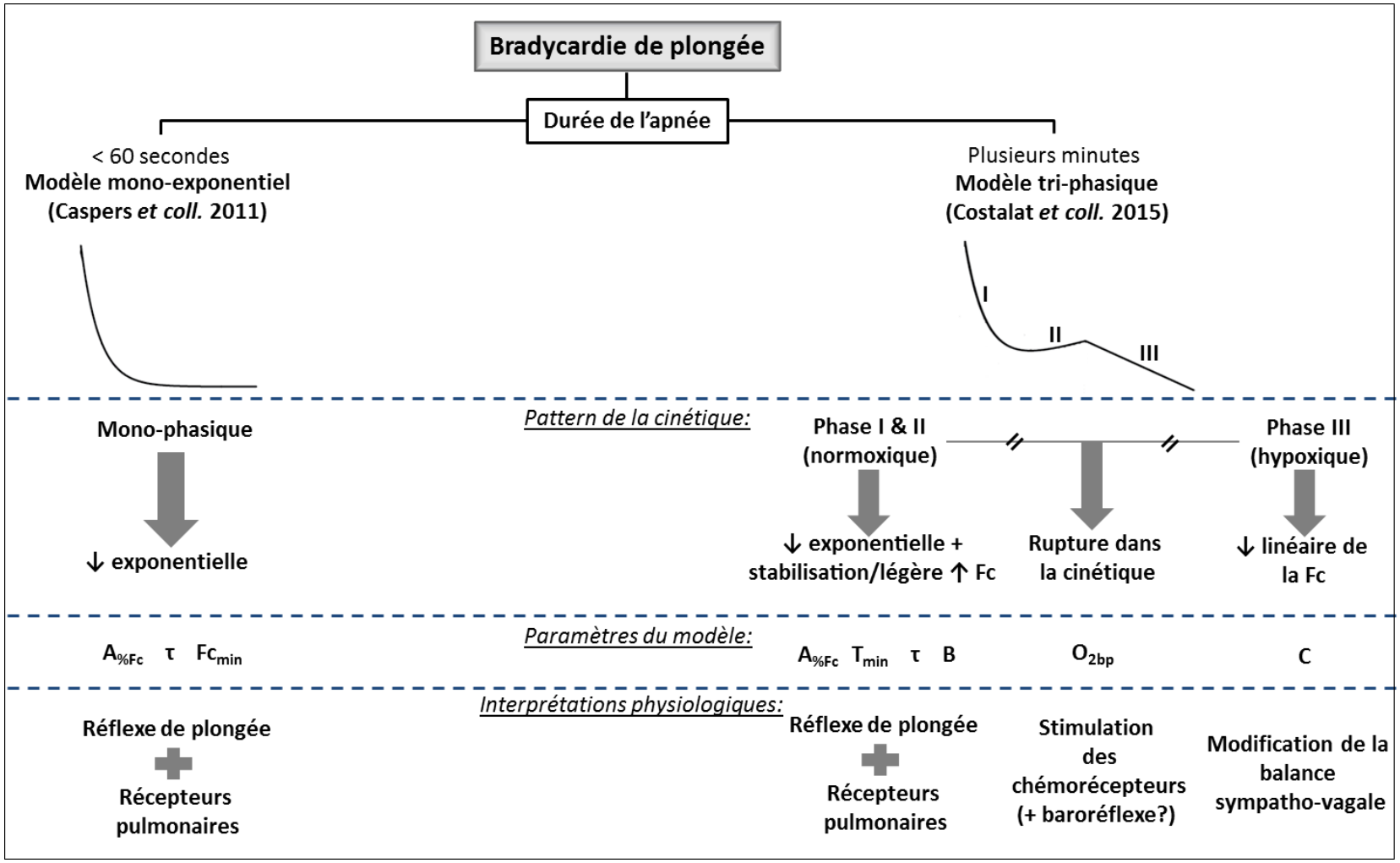


Figure 74 : Comparaison du modèle mono-phasique et tri-phasique (apnée statique). Ce schéma regroupe les paramètres propres à chaque modèle et leur interprétation physiologique.

IV.1.2 Limites

L'absence d'un enregistrement continu de la pression artérielle pendant l'apnée constitue la principale limite de cette étude (e.g. avec un appareil de type Finometer®). En effet, cela aurait permis de collecter des données hémodynamiques supplémentaires (e.g. pression artérielle systolique / diastolique, résistances périphériques) tout en permettant de dégager de nouvelles hypothèses sur l'éventuel rôle de l'hypoxémie sur le baroréflexe, notamment au « point d'économie d'O_2 » (**figure 74**).

Une autre critique peut être formulée sur l'oxymètre de pouls que nous avons utilisé pour enregistrer la SpO_2. Celle-ci a atteint sa valeur minimale (SpO_{2min}) peu après la fin de l'apnée dans les deux conditions expérimentales. Le temps de latence pour détecter la SpO_{2min} à partir de notre oxymètre de pouls attaché au doigt était en moyenne de 11,2 s à l'air libre et 16,0 s en immersion. Ce retard à détecter l'hypoxémie centrale (i.e. la SaO_2) pendant l'apnée s'explique par le temps nécessaire à la circulation pulmonaire d'atteindre l'extrémité de l'artère radiale (environ 6 s), auquel s'ajouterait un délai supplémentaire lié aux effets de la vasoconstriction périphérique (Lindholm et coll. 2007; Andersson et Evaggelidis 2009). Par conséquent, la SpO_2 enregistrée au doigt pendant l'apnée pourrait ne pas représenter la saturation artérielle détectée par les chémorécepteurs. Afin d'estimer la contribution de ce temps de latence sur les valeurs de la SpO_2 lorsque les apnéistes ont atteint le « point d'économie d'O_2 », nous avons choisi de pondérer la SpO_2 en fonction du délai que nous avons enregistré (11,2 s et 16,0 s). La comparaison des valeurs de SpO_2 « pondérées » aux valeurs brutes enregistrées au « point d'économie d'O_2 » révèle des pourcentages d'erreur moyens (± ecart-type) de 0,7 % (0,4) en immersion et de 1,9 % (1,0) à l'air libre. Sachant que le retard de l'appareil à détecter l'hypoxémie centrale au « point d'économie d'O_2 » est sans doute inférieur à celui que nous avons observé en fin d'apnée, il paraît peu probable que ce temps de latence ait influencé la SpO_2, du moins jusqu'au « point d'économie d'O_2 ». De ce fait, nous estimons que les pourcentages de la SpO_2 jusqu'au « point d'économie d'O_2 » sont représentatifs de la SaO_2.

IV.1.3 Conclusion et perspectives

Ces deux études révèlent des patterns hémodynamiques tri-phasiques lorsque l'apnée statique est réalisée en condition réelle de pratique (immersion complète) ou en condition laboratoire (apnée à l'air libre). Les manifestations cardio-vasculaires du réflexe de plongée sont néanmoins plus prononcées lors de l'apnée en immersion, améliorant ainsi l'économie

des stocks en O_2 en début d'apnée. Par ailleurs, la validation d'un nouveau modèle de régression non-linéaire capable de quantifier la bradycardie a permis de mettre en évidence un nouveau concept de « point d'économie d'O_2 ». Nous avons pu mesurer ce phénomène en condition réelle de pratique de l'apnée, mais également en condition laboratoire, renforçant ainsi la crédibilité et l'existence de ce nouveau concept. Le point de rupture, qui permet de séparer l'apnée en une phase normoxique et hypoxique, est très probablement le reflet d'une stimulation des chémorécepteurs sensibles à l'hypoxie. Le « point d'économie d'O_2 » marque en effet une rupture de la balance sympathovagale, permettant aux apnéistes d'améliorer le potentiel du réflexe de plongée à économiser l'O_2 dans la deuxième partie de l'apnée. Ainsi, en sus du réflexe de plongée, les apnéistes adopteraient donc des stratégies hémodynamiques supplémentaires afin de retarder l'hypoxie tissulaire des organes nobles, facilitant *in fine* un allongement de la durée de l'apnée.

IV.2 Etude 2 (Projet FreeHypox)

IV.2.1 Discussion

Les principaux résultats de cette étude ont mis en avant :

- La découverte d'un « point d'économie d'O_2 » dans la cinétique de la bradycardie des apnéistes pendant une apnée dynamique maximale (avec effort). Ce phénomène est en revanche absent chez les sujets témoins.
- Un réflexe de plongée plus prononcé chez les apnéistes que chez les sujets témoins, augmentant *in fine* l'économie d'O_2 des apnéistes par rapport aux sujets témoins. Ceci s'explique par les baisses quasi simultanées du débit sanguin périphérique (musculaire) et de la Fc en milieu d'apnée chez les apnéistes.
- Une baisse du débit sanguin du vaste latéral associée à une sollicitation plus importante de la glycolyse anaérobie chez les apnéistes que chez les sujets témoins pendant l'apnée à l'effort.

Chez les apnéistes, la modélisation de la cinétique de la Fc pendant l'apnée dynamique révèle, contrairement aux sujets témoins, l'existence d'un point de rupture suivi d'une seconde chute (linéaire) plus prononcée de la Fc (**figure 59**). Ces observations confirment donc l'existence d'un « point d'économie d'O_2 » pendant l'apnée chez les apnéistes, car ce dernier apparaît à 50-55 % du temps d'apnée et à des pourcentages de SpO_2 (95-96%) très proches de notre étude précédente (Costalat et coll. 2015). Par ailleurs, nous avons observé

que la [HHb] est en constante hausse tout au long de l'apnée dynamique. L'analyse statistique révèle cependant que cette augmentation est moins importante chez les apnéistes que chez les sujets témoins à partir de 50 % du temps d'apnée (**figure 60a**). Au même moment, seule la [tHb] des apnéistes commence à décroître en raison d'une baisse de la [HbO_2] et d'une moindre augmentation de la [HHb] chez les apnéistes par rapport aux sujets témoins (**figure 60a-c**). Il a été démontré que les variations de [tHb] correspondent aux variations du volume sanguin traversé par la NIRS (Van Beekvelt et coll. 2001b). En considérant un taux d'hématocrite constant, nous pouvons admettre que les variations du volume sanguin ([tHb]) correspondent aux variations du débit sanguin, reflétant ainsi le degré d'oxygénation du tissu traversé par la NIRS (Van Beekvelt et coll. 2001b; Perrey 2008). Sachant que la baisse de la StO_2 est identique tout au long de l'apnée entre les deux groupes (**figure 60d**), nous pensons que la baisse de l'oxygénation uniquement observée chez les apnéistes à partir du « point d'économie d'O_2 » provient d'une hypoperfusion du vaste latéral. Cette baisse du débit sanguin musculaire est très probablement liée à l'augmentation de l'activité sympathique. En effet, Heusser *et coll.* ont observé que l'activité nerveuse sympathique musculaire (ANSM) enregistrée par micro-électroneurographie était 5 fois plus élevée en fin d'apnée chez des apnéistes que des sujets non entraînés à l'apnée (Heusser et coll. 2009). Lors d'un exercice en hypoxie (sans apnée), il a été aussi démontré que l'ANSM augmentait (Saito et coll. 1988; Hanada et coll. 2003). Pourtant, pendant l'effort modéré en hypoxie, l'effet vasoconstricteur de l'activité sympathique est fortement atténué au niveau des lits vasculaires des muscles squelettiques actifs (Heistad et coll. 1975; Wilkins et coll. 2006). Ce phénomène s'explique par une vasodilatation compensatrice d'origine endothéliale (**figure 75**), permettant ainsi de maintenir un débit sanguin et un apport en O_2 suffisant en direction des muscles squelettiques pendant un exercice modéré en hypoxie (Casey et Joyner 2012). Cela se traduit au niveau de la NIRS par une stabilisation de la [tHb] musculaire lors d'un exercice sous-maximal en hypoxie, voire d'une augmentation de cette variable au fur et à mesure que l'exercice s'intensifie (Subudhi et coll. 2007; Rupp et Perrey 2009). Le comportement de la [tHb] au cours d'un effort en hypoxie contraste donc avec la baisse de la [tHb] rencontrée lors de la phase hypoxique de l'apnée dynamique des apnéistes.

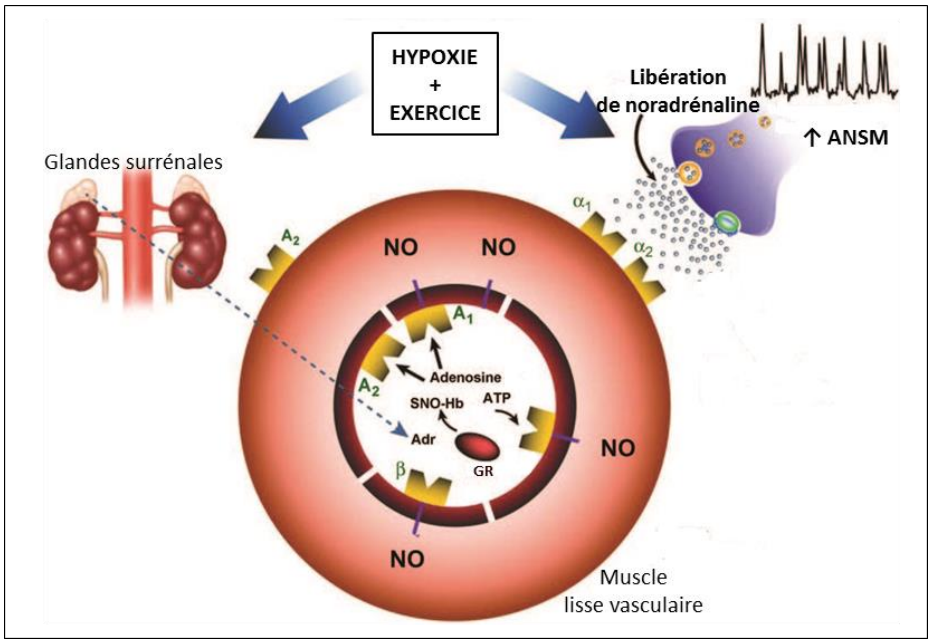


Figure 75 : Mécanismes intervenant dans la vasodilatation périphérique pendant un exercice sous-maximal en hypoxie. ANSM, activité nerveuse sympathique musculaire ; NO, monoxyde d'azote ; ATP, adénosine triphosphate ; RBC, globule rouge, Adr, adrénaline ; SNO-Hb, SNO-hémoglobine ; A_1, A_2, récepteurs de l'adénosine ; α_1, α_2, β, récepteurs adrénergiques (d'après Casey et Joyner, 2012).

Steinback *et coll.* ont montré que l'ANSM était deux fois plus élevée pendant l'apnée lorsque celle-ci est comparée à la respiration d'un mélange gazeux hypoxique hypercapnique équivalent aux concentrations de l'apnée (Steinback et coll. 2010b). Il semble donc que les effets synergétiques du réflexe de plongée et de l'hypoxémie soient à l'origine d'une exagération de l'activité sympathique périphérique et de la vasoconstriction périphérique, ce qui expliquerait la baisse du débit sanguin du vaste latéral. Cette hypothèse sous-entend donc que l'augmentation de l'activité sympathique prédominerait sur la vasodilatation d'origine endothéliale normalement observée pendant un exercice modéré en hypoxie (**figures 75 et 76**).

Par ailleurs, notons que le temps auquel la [tHb] commence à chuter correspond à l'intersection des deux droites de régression s'ajustant à la Fc des apnéistes (point de rupture). Les apparitions quasi simultanées de ces deux événements renforcent la crédibilité du nouveau concept de « point d'économie d'O_2 » dans la cinétique de la bradycardie des apnéistes. Notre étude montre aussi que les désaturations périphériques en O_2 sont semblables entre les deux groupes avant et après le « point d'économie d'O_2 » (**figure 58d**), en dépit d'apnées de plus longues durées réalisées par les apnéistes. Les modifications hémodynamiques en aval du « point d'économie d'O_2 » sont donc à l'origine d'un ralentissement de la désaturation périphérique en O_2 chez les apnéistes. Celles-ci

permettraient ainsi d'augmenter le temps d'apnée tout en retardant les organes nobles d'une hypoxie tissulaire (Alboni et coll. 2011).

D'après nos résultats, il semblerait donc que l'économie d'O_2 soit inversement corrélée au degré d'oxygénation du tissu musculaire. En d'autres termes, plus la désaturation artérielle en O_2 au cours de l'apnée est ralentie, plus l'hypoxie musculaire serait importante (**figures 76 et 77**). La baisse du débit sanguin périphérique et la lactatémie, plus élevée chez les apnéistes en fin d'apnée, iraient dans le sens de cette hypothèse. Roecker *et coll.* ont observé que les apnéistes privilégiaient très précocement les processus énergétiques de type anaérobie au détriment des processus oxydatifs pendant un test d'effort triangulaire (Roecker et coll. 2014). Pendant l'apnée, d'après la cinétique de la [tHb], le passage d'une utilisation prioritaire des processus oxydatifs à une prédominance des processus anaérobies semble s'opérer lorsque la [tHb] commence à chuter, i.e. au « point d'économie d'O_2 » (**figure 76**). Dans notre étude, les apnéistes ont approximativement doublé leur lactatémie de repos après l'apnée dynamique (+104 %). Cette observation conforte le travail de Breskovic et *coll.* qui ont observé une augmentation de 100 % des lactates après une apnée dynamique maximale chez des apnéistes très entraînés (Breskovic et coll. 2011).

Les études utilisant la NIRS pendant l'apnée ont observé que la désaturation en O_2 du tissu musculaire précédait la désaturation artérielle en O_2. Cette observation conforte donc l'existence d'une économie des stocks en O_2 pendant l'apnée chez l'être humain (Valic et coll. 2006; Palada et coll. 2007b; Eichhorn et coll. 2015). S'appuyant sur des apnées statiques, ces travaux n'ont, en revanche, jamais été en mesure d'observer une baisse du débit sanguin musculaire ([tHb]). Nous émettons donc l'hypothèse que l'exercice (et ses stimuli associés) serait un facteur clé pour déclencher des variations significatives du débit sanguin des muscles (actifs) pendant l'apnée. Par ailleurs, des taux de lactate 25 % à 40 % plus importants ont été retrouvés après une seule apnée dynamique en comparaison d'une apnée statique chez les apnéistes (Breskovic et coll. 2011; Kiviniemi et coll. 2012), ce qui semble donc accréditer cette hypothèse.

Cependant, soulignons que les cinétiques de la [HbO_2] chutent de la même façon entre les apnéistes et les témoins tout au long de l'apnée dynamique (**figure 60b)**. Il est donc probable que l'[HbO_2] ne soit pas représentatif de l'oxygénation musculaire pendant l'apnée dynamique. En effet, sachant que ce paramètre est sensible aux variations du débit sanguin (Grassi et coll. 2003), il est difficile de déterminer si la baisse de l'[HbO_2] provient du métabolisme oxydatif ou de la vasoconstriction périphérique induite par l'apnée. De ce fait, nos résultats tendent à confirmer que l'[HbO_2] devrait être interprétée avec une très grande

précaution quand la [tHb] est vouée à varier entre plusieurs groupes et/ou conditions (Grassi et coll. 2003).

Notre étude montre pour la première fois l'existence du « point d'économie d'O_2 » pendant l'apnée dynamique. Cet événement est en revanche uniquement visible chez les apnéistes. En effet, l'utilisation d'une double régression linéaire est indispensable pour décrire la cinétique de la Fc des apnéistes (R^2 = 0,98). Chez les témoins, aucun point de rupture n'a pu être identifié dans leur cinétique de bradycardie, comme l'atteste l'excellente qualité d'ajustement du modèle linéaire simple (R^2 = 0,94). Les pourcentages de SpO_2 au « point d'économie d'O_2 » sont très proches des pourcentages que nous avons pu observer au cours de l'apnée statique (**étude 1**), renforçant ainsi l'hypothèse que ce point du rupture proviendrait d'une stimulation des chémorécepteurs à l'hypoxie (González et coll. 1992). Par ailleurs, contrairement à l'apnée statique de l'**étude 1**, le VES n'a pas bougé au cours de l'apnée dynamique (**figure 58b**), ce qui tendrait à minimiser l'effet (indirect) du gaz carbonique sur l'accentuation de la bradycardie après le « point d'économie d'O_2 » (cf. pages 140-141). Enfin, nous verrons dans la prochaine étude que les apnéistes possèdent une hausse de la réponse ventilatoire à l'hypoxie, sans que celle-ci soit modifiée pour le gaz carbonique (projet CarbOxy) (Costalat et coll. 2014). Sachant que le « point d'économie d'O_2 » est apparu à une SpO_2 semblable entre les deux groupes (**figure 58d**), une augmentation de la chémosensibilité à l'hypoxie des apnéistes en raison de leur entraînement est alors envisageable (**figures 76 et 77**), ce qui pourrait en partie expliquer les stratégies hémodynamiques des apnéistes en aval du « point d'économie d'O_2 » (Costalat et coll. 2015).

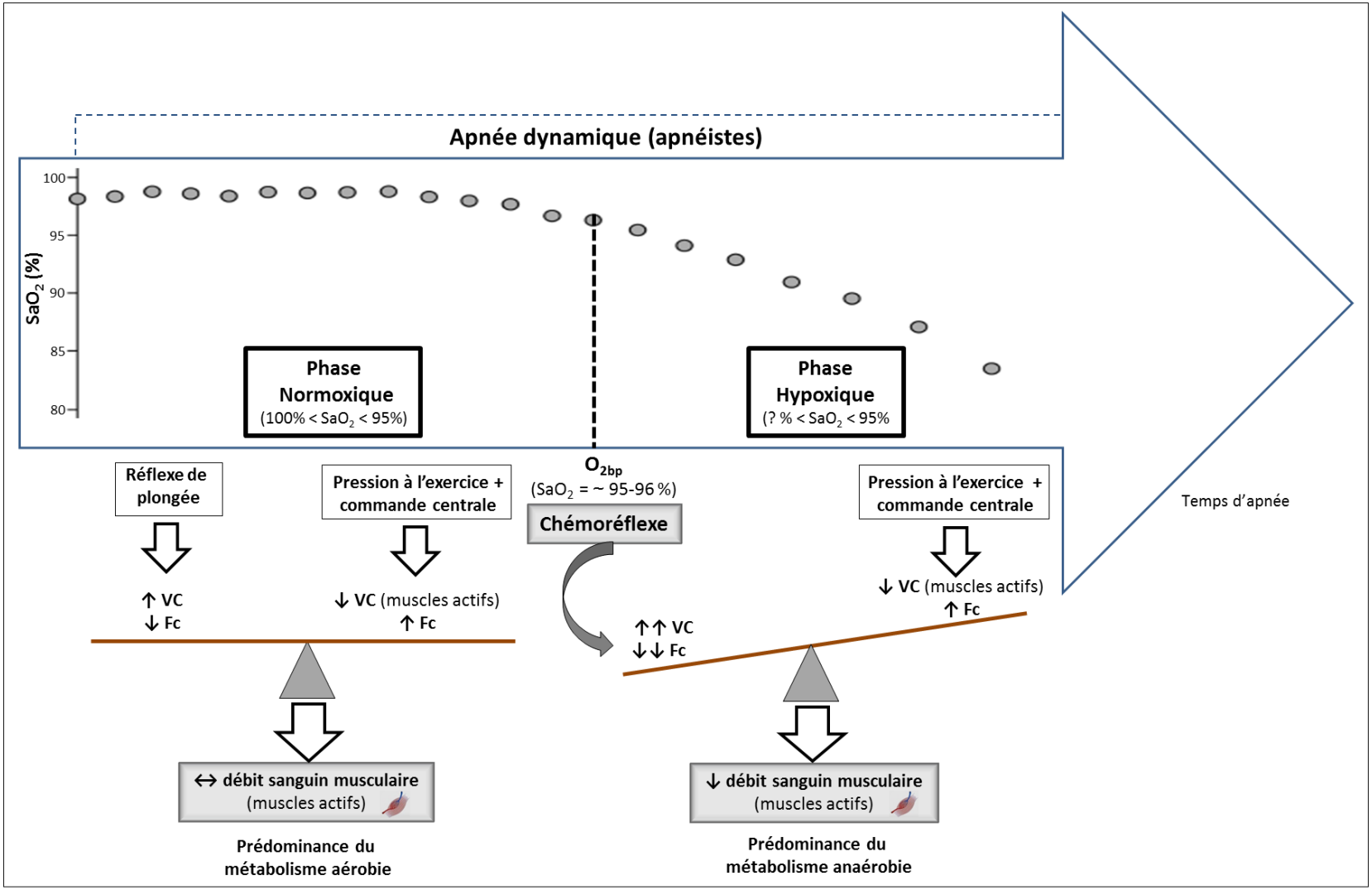


Figure 76 : Proposition de schématisation expliquant l'origine de la baisse du débit sanguin musculaire au cours d'une apnée dynamique chez l'apnéiste. Cette schématisation s'appuie sur le nouveau concept de « point d'économie d'O_2 » qui sépare l'apnée en une phase normoxique et une phase hypoxique. VC, vasoconstriction périphérique ; Fc, fréquence cardiaque.

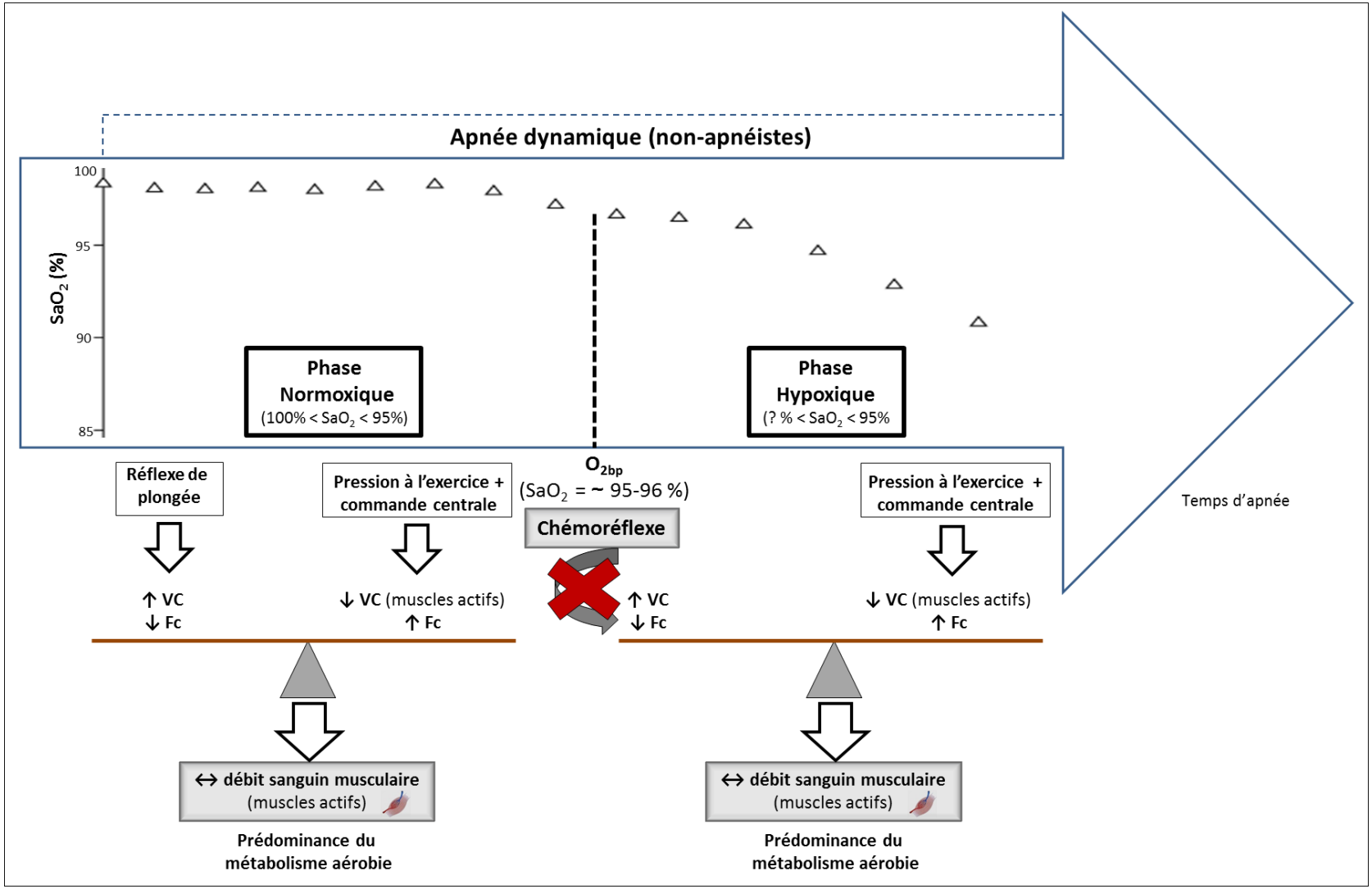


Figure 77 : Proposition de schématisation expliquant les mécanismes de l'évolution du débit sanguin musculaire au cours d'une apnée dynamique chez des non-apnéistes. Cette schématisation s'appuie sur le nouveau concept de « point d'économie d'O_2 » qui sépare l'apnée en une phase normoxique et une phase hypoxique. VC, vasoconstriction périphérique ; Fc, fréquence cardiaque.

IV.2.2 Limites

L'amplitude et les cinétiques cardio-vasculaires du réflexe de plongée sont connues pour être corrélées à la charge de travail pendant l'apnée (Wein et coll. 2007). Des intensités élevées tendent à retarder l'apparition du réflexe de plongée ainsi qu'à minimiser son amplitude (Wein et coll. 2007). À l'inverse, des intensités plus faibles tendent à précipiter l'apparition de ce réflexe ainsi qu'à augmenter son amplitude (Wein et coll. 2007). Les bonnes qualités d'ajustement du modèle linéaire simple (témoins) ou double (apnéistes) seraient donc uniquement vraies dans les conditions expérimentales de notre projet, i.e. une apnée dynamique simulée sur cyclo-ergomètre réalisée à 30 % du PPM avec immersion du visage. Il n'est donc pas garanti que ces modèles soient appropriés si l'apnée est réalisée à une autre intensité ou dans des conditions réelles de pratique de l'apnée dynamique.

Dans les études précédentes, le choix de la charge de travail pendant l'apnée dynamique simulée reposait essentiellement sur une intensité exprimée en valeur absolue (Watt). Une seule et même intensité était donc choisie de manière arbitraire pour l'ensemble des participants (Andersson et coll. 2004; Wein et coll. 2007; Andersson et Evaggelidis 2009; Sivieri et coll. 2015), ce qui n'est pas le cas de notre étude. Le choix d'une intensité relative (30 % du PPM) a permis de s'assurer que chaque sujet soit confronté à un effort de type sous-maximal, minimisant ainsi la composante anaérobie (et la production de lactate) de l'exercice *per se* (Gollnick et coll. 1986). Ainsi, nous pensons que la hausse de lactate observée chez les apnéistes provient des effets de l'entraînement à l'apnée, et notamment de la baisse du débit sanguin musculaire des muscles actifs. Enfin, cette intensité a également permis de faciliter la mise en évidence du « point d'économie d'O_2 » ainsi que la comparaison des cinétiques de la Fc entre les deux groupes (comparaison de modèles linéaires « emboîtés[16] », i.e. modèle linéaire simple vs. modèle linéaire double).

Nous savons que le réflexe de plongée peut déclencher une baisse du débit sanguin cutané allant de 25 % à 50 % pendant l'apnée, avec ou sans immersion du visage (Andersson et Schagatay 1998; Schagatay et coll. 1999; Andersson et coll. 2004). Il a par ailleurs été démontré que les variations du débit sanguin musculaire enregistrées par la NIRS peuvent être « contaminées » par les variations de la micro-circulation cutanée (Messere et Roatta 2013; Miyazawa et coll. 2013). Il est donc possible d'imaginer que la baisse de la [tHb] provienne finalement d'une simple baisse du débit sanguin cutané. Bien qu'il nous ait été impossible de déterminer la proportion du débit sanguin cutané dans la chute de la [tHb], l'hypothèse semble

[16] Deux modèles sont dits « emboîtés » si l'un peut être considéré comme un cas particulier de l'autre.

peu crédible, car l'hyperlactatémie (post-apnée) démontre indirectement que la cinétique de la [tHb] est liée à une hypoperfusion musculaire des muscles actifs. Ainsi, il demeure très improbable que la baisse du débit sanguin cutané constitue le seul phénomène responsable d'une chute de la [tHb].

IV.2.3 Conclusion et perspectives

D'une part, cette étude renforce l'idée d'un « point d'économie d'O_2 » dans la cinétique de la bradycardie, ceci grâce à la construction d'un modèle comprenant une double régression linéaire. D'autre part, nos résultats montrent que les ajustements hémodynamiques (cardiaques et périphériques) aidant à améliorer l'économie d'O_2 sont uniquement présents chez les apnéistes entraînés. Les brefs épisodes hypoxémiques auxquels sont fréquemment confrontés les apnéistes lors de l'entraînement leur permettraient d'adopter des stratégies hémodynamiques efficaces pour économiser les stocks en O_2 et augmenter leur temps d'apnée. Parmi ces modifications, notre étude a démontré que le débit sanguin musculaire des muscles actifs était atténué en aval du « point d'économie d'O_2 », un phénomène que nous n'avons pas observé chez les sujets témoins. S'entraîner en apnée offrirait donc la possibilité d'ajouter à l'exercice une contrainte « métabolique » supplémentaire sur le tissu musculaire squelettique. Actuellement, une nouvelle méthode d'entraînement en hypoventilation à bas volume pulmonaire (HVB) est en train d'émerger dans le monde de l'entraînement sportif (Woorons et coll. 2008). La technique, proche de l'apnée, permet de simuler un environnement hypoxique en restant au niveau de la mer, tout en dispensant l'athlète d'acheter un appareil souvent onéreux pour produire l'environnement hypoxique (e.g. tente, *hypoxicator*, caisson ou chambre hypoxique). L'exercice modéré en HVB solliciterait davantage la glycolyse anaérobie qu'un exercice en respiration normale en raison d'une baisse de l'oxygénation musculaire (Woorons et coll. 2010; Woorons et coll. 2014). Tout comme l'apnée, les résultats sur l'hypoventilation ont révélé que l'hypoxémie s'accompagnait d'une augmentation de la $PaCO_2$ (Woorons et coll. 2007a). Les entraînements en apnée et en HVB seraient donc des méthodes à double effet, hypoxique et hypercapnique. L'effet combiné de l'hypercapnie et de l'hypoxie, qui crée une forte acidose, pourrait aussi générer des adaptations qui conduisent à une réduction du niveau d'acidité dans l'organisme, ce qui serait avantageux pour la performance anaérobie (Woorons et coll. 2008). L'apnée et l'HVB pourraient donc constituer des méthodes bénéfiques pour des pratiques sportives comprenant des efforts courts et intenses, où la sollicitation du métabolisme anaérobie est le principal facteur de performance (Millet et coll. 2010; McLean et coll. 2014). Pour confirmer cette

hypothèse, une nouvelle étude est actuellement envisagée pour mesurer les effets de l'entraînement hypoxique hypercapnique (apnée dynamique et HVB) sur la performance anaérobie. Ces deux techniques respiratoires seront aussi comparées aux méthodes d'entraînement hypoxiques plus classiques qui comprennent une exposition à un environnement appauvri en O_2 (e.g. entraînement en hypoxie intermittente).

IV.3 Étude 3 (projet CarbOxy)

IV.3.1 Discussion

Les principaux résultats de cette étude montrent :

- Une augmentation de la réponse ventilatoire à l'hypoxie aiguë (HVR) plus prononcée chez le groupe composé d'apnéistes que chez le groupe témoin. Cette différence est observable au repos (HVR_r) ainsi qu'à l'effort (HVR_e).
- Une réponse cardio-ventilatoire à l'hypercapnie (HCVR) similaire entre les apnéistes et les sujets témoins.

Notre étude est la première à observer une augmentation de l'HVR lors d'un test en hypoxie poïkilocapnique au repos et à l'effort chez les apnéistes. Les précédents travaux, dont la plupart réalisés au repos et en condition isocapnique, ont en effet rapporté une HVR_r comparable au groupe témoin (Masuda et coll. 1982; Breskovic et coll. 2010a; Breskovic et coll. 2010b) ou une HVR_r plus faible que celle du groupe témoin (Masuda et coll. 1981; Bjurstrom et Schoene 1987). Nos résultats vont dans le sens des travaux de Feiner *et coll.* qui avaient montré que l'intensité de l'HVR était très étroitement corrélée aux performances en apnée (Feiner et coll. 1995). En dépit d'une grande hétérogénéité d'HVR parmi les sujets sains (Sahn et coll. 1977; Zhang et Robbins 2000), la différence d'HVR que nous avons mesurée entre les deux groupes (+68%) est proche, voire légèrement supérieure aux effets d'une exposition passive et quotidienne à l'hypoxie intermittente de 1 à 6 heures pendant 4 à 14 jours (+60%, **tableau 3**). Chez les apnéistes, la valeur moyenne de l'HVR_e a atteint une intensité supérieure ou égale à 0,8 $L.min^{-1}.kg^{-1}$, un seuil de sensibilité aujourd'hui considéré comme indicateur d'une importante chémosensibilité à l'hypoxie (Richalet et coll. 2009). Richalet *et coll.* ont confirmé que les principaux facteurs de risques de développer une pathologie sévère d'altitude résidaient dans l'existence d'antécédents d'une pathologie d'altitude, une ascension trop rapide en altitude et une HVR_e poïkilocapnique inférieure à 0,78 $L.min.^{-1}.kg^{-1}$ (Richalet et coll. 2012). Dans la continuité de leur travail, cette équipe de

recherche a très récemment développé un modèle (score) capable de prédire le risque d'apparition d'une pathologie d'altitude en s'appuyant sur des facteurs cliniques et physiologiques (Canoui-Poitrine et coll. 2014). L'inclusion des paramètres physiologiques calculés à partir de test de « Richalet » (à l'effort) sont parvenus à sensiblement améliorer leur modèle de prédiction (Canoui-Poitrine et coll. 2014). Ainsi, nos résultats tendent à montrer que les apnéistes pourraient réduire la probabilité d'occurrence d'une pathologie d'altitude par une bonne acclimatation ventilatoire à l'hypoxie pendant l'effort.

La hausse de l'HVR pourrait être liée aux effets de l'entraînement à l'apnée. Tout comme les protocoles hypoxiques, la baisse progressive de la PaO_2 pendant l'apnée pourrait stimuler la chémosensibilité des chémorécepteurs à l'hypoxie, expliquant la hausse de l'HVR chez les apnéistes par rapport aux sujets témoins. La récente découverte d'un « point d'économie d'O_2 » au cours de l'apnée statique et dynamique irait aussi dans le sens de cette hypothèse (Costalat et coll. 2015), car son apparition semble correspondre au seuil de stimulation des chémorécepteurs périphériques à l'hypoxie (González et coll. 1992). Dans cette étude, les tests hypoxiques ont été réalisés en juin. Cette période marque la fin de la saison d'entraînement ; les apnéistes ont donc été confrontés, durant cette période d'entraînement, à de nombreuses hypoxémies susceptibles d'avoir augmenté leur chémosensibilité. À l'inverse, en début de saison, les apnéistes sont généralement exposés à une proportion plus importante d'épisodes hypercapniques. Ceci pourrait en partie expliquer l'augmentation de l'HVR et les résultats contradictoires avec la littérature.

Chez les apnéistes et les sujets témoins, la hausse du $\dot{V}_E$ pendant les phases hypoxiques s'accompagne d'une augmentation de la Fc et du DC (**figure 62**). Connus depuis plus d'un siècle chez l'être humain (Gardiner et Hoagland 1905), ces changements cardio-vasculaires assurés par le système sympathique permettent un apport suffisant en O_2 vers les tissus malgré la chute de la SaO_2 (Naeije 2010). Il est intéressant de souligner que les augmentations (exprimées en pourcentage) de la Fc et du DC à l'effort sont moins importantes chez les apnéistes que dans le groupe témoin (**figure 62b**). Ces résultats reflèteraient une meilleure acclimatation des apnéistes représentée par une réponse plus efficiente du système cardiovasculaire (Fc et DC) à l'hypoxie. En effet, au-dessus de 3500 m d'altitude, une baisse de la Fc à l'origine d'une chute du DC a aussi été démontrée pendant l'effort sous-maximal après des programmes en hypoxie de courte durée (Beidleman et coll. 2003; Katayama et coll. 2005a; Beidleman et coll. 2008). La baisse de l'activité chronotrope positive serait le reflet du processus d'acclimatation à l'altitude (Muza et coll. 2010; Zhang et coll. 2014), lui-même lié à une désensibilisation des récepteurs β-adrénergiques cardiaques et/ou à une augmentation de

l'activité parasympathique (Richalet et coll. 1988; Richalet et coll. 1992b). La chute du DC rendrait plus efficient le transport de l'O_2 *via* un ralentissement du temps de transit des érythrocytes au niveau des capillaires pulmonaires (Bender et coll. 1989; Sawka et coll. 2000). Par ailleurs, De Bruijn *et coll.* ont observé que les apnéistes possédaient une concentration en hémoglobine au repos plus importante (+5%) que des skieurs de fond de haut niveau (de Bruijn et coll. 2004). La même équipe de recherche a par la suite démontré que 3 séries de 5 apnées successives étaient en mesure d'augmenter la concentration d'érythropoïétine (EPO) circulante (de Bruijn et coll. 2008). Chez des apnéistes entraînés, Kjeld et *coll.* ont constaté une augmentation de près de 17 % d'EPO circulante après l'enchaînement d'une apnée statique et dynamique maximale (Kjeld et coll. 2014). De plus, 8 semaines d'entraînement à l'apnée, 3 fois par semaine pendant 30 à 45 minutes ont augmenté de 5,4% la concentration en hémoglobine chez des nageurs de haut niveau (Zoretić et coll. 2014). Les séances d'entraînement en apnée augmenteraient donc la capacité de transport de l'O_2, ce qui favoriserait une bonne capacité de transport de l'O_2 chez des apnéistes confrontés à un exercice en hypoxie (Bebout et coll. 1985). C'est ainsi que la hausse de l'HVR se traduit généralement par une hausse simultanée du $\dot{V}_E$ et de la SaO_2 (Katayama et coll. 2001a), ce qui n'est pourtant pas le cas chez nos apnéistes (**tableau 15**). En effet, La hausse du $\dot{V}_E$ ne s'accompagne pas d'une différence de SpO_2 entre les deux groupes. Ceci peut paraître étonnant, car l'hyperventilation génère une alcalose respiratoire (hypocapnie) qui décale vers la gauche la courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine (**figure 76**) (Jensen 2004). Le phénomène renforce l'affinité de l'O_2 avec l'hémoglobine, sensé *in fine* ralentir la désaturation artérielle en O_2.

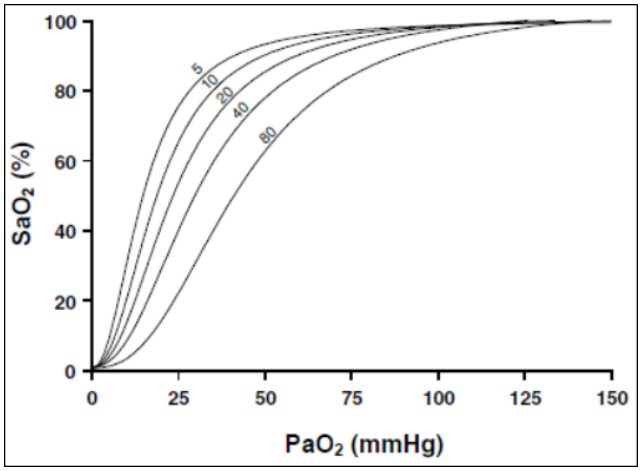


Figure 78 : Courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine (de Barcroft). Une baisse de la PCO_2 (hypocapnie) entraîne un décalage vers la gauche de la courbe (d'après Jensen *et coll.* 2004).

Après un protocole hypoxique d'une semaine, Wille *et coll.* ont observé une hausse de l'HVR_r négativement corrélée au score de Lake Louis (Wille et coll. 2012). Pourtant, tout comme notre étude, cette réponse ne s'accompagnait pas d'une moindre désaturation artérielle en O_2 (Wille et coll. 2012). L'hyperventilation nécessite un travail plus important du diaphragme, et plus généralement de l'ensemble des muscles respiratoires (Cibella et coll. 1996; Verges et coll. 2010). Ainsi, il est probable que la hausse du $\dot{V}_E$ en hypoxie observée chez les apnéistes (**figure 61**) ait augmenté le coût énergétique provenant des muscles respiratoires, ce qui expliquerait les SpO_2 similaires entre nos deux groupes.

Plusieurs méthodes sont recensées dans la littérature pour estimer l'HVR (Teppema et Dahan 2010). La grande majorité d'entre elles s'appuie sur des expositions passives à l'hypoxie isocapnique afin d'isoler la stimulation des chémorécepteurs à l'hypoxie. La $PaCO_2$ (de repos) est donc maintenue constante tout au long du test *via* l'introduction de gaz carbonique dans le circuit (e.g. test de Weil) (Weil et coll. 1970). Le test de « Richalet » se différencie de ces méthodes car il est de nature poïkilocapnique, i.e. sans aucune régulation de la $PaCO_2$ au cours du test. Ce dernier a donc été privilégié pour déterminer les réponses cardio-ventilatoires à l'hypoxie en raison de ses points communs avec l'altitude naturelle (hypoxie hypocapnique) (Brugniaux et coll. 2006). De plus, le test de « Richalet » intègre une mesure la composante ventilatoire à l'effort (i.e. l'HVR_e), un paramètre jugé plus robuste pour évaluer la tolérance à l'hypoxie, puisqu'il possède une variabilité intra-individuelle bien moins élevée que celle de l'HVR_r (Lhuissier et coll. 2012). Nous savons maintenant que l'hypoxémie est accentuée pendant l'exercice en altitude, un phénomène particulièrement vrai chez les sportifs aux qualités aérobies très développées (Mollard et coll. 2007; Woorons et coll. 2007b). Ainsi, il semble plus approprié d'évaluer les réponses à l'hypoxie à l'effort quand l'objectif premier est de prédire le risque de développer une pathologie d'altitude (Richalet et Canoui-Poitrine 2014).

Depuis de nombreuses années, la communauté scientifique argumente en faveur d'une baisse de l'HCVR chez les apnéistes (Schaefer et coll. 1963; Ferretti 2001; Foster et Sheel 2005; Schagatay 2010). Cette atténuation de l'HCVR retarderait l'apparition des contractions involontaires du diaphragme, expliquant l'allongement du temps d'apnée (Ferretti et Costa 2003). Nous pensons que ce concept devrait désormais être remis en cause puisqu'un nombre grandissant d'études, dont la nôtre, indique que l'HCVR ne serait pas modifiée après plusieurs d'années d'entraînement à l'apnée (Dujic et coll. 2008; Bourdas et coll. 2014; Costalat et coll. 2014). Par ailleurs, un entraînement à l'apnée sur le court terme (5 apnées répétées), ni même un entraînement de 14 jours consécutifs ne parviennent à modifier l'HCVR, bien que les

temps d'apnées soient plus longs à la suite du protocole (Andersson et Schagatay 2009; Bourdas et coll. 2015). Les facteurs expliquant l'allongement de la durée de l'apnée sembleraient donc davantage corrélés à la réponse ventilatoire à l'hypoxie (Feiner et coll. 1995; Costalat et coll. 2014), l'amélioration du profil hématologique (Bourdas et coll. 2015) ou bien liés à des facteurs psychologiques (e.g. résistance aux contractions involontaires du diaphragme) (Schagatay et coll. 1999).

IV.3.2 Limites

Cette étude suggère que l'entraînement à l'apnée permettrait d'augmenter la chémosensibilité des récepteurs à l'hypoxie, ce qui expliquerait la réponse ventilatoire élevée chez les apnéistes. Pour autant, nous ne pouvons pas ignorer l'éventualité d'une influence de facteurs génétiques sur l'intensité de l'HVR (Han et Strohl 2000). Chez la souris, Tankersley *et coll* sont en effet parvenus à identifier un polymorphisme sur les loci du chromosome 3 et 9, tous deux capable d'influencer jusqu'à 30 % le phénotype de l'HVR (Tankersley et coll. 1998; Tankersley 2001). Pour pallier cette limite, un nouveau projet de recherche est actuellement envisagé dans le but d'étudier les effets spécifiques d'un entraînement en apnée sur les réponses cardio-ventilatoires à l'hypoxie de non-apnéistes (projet AltiTrainer, **figure 79**).

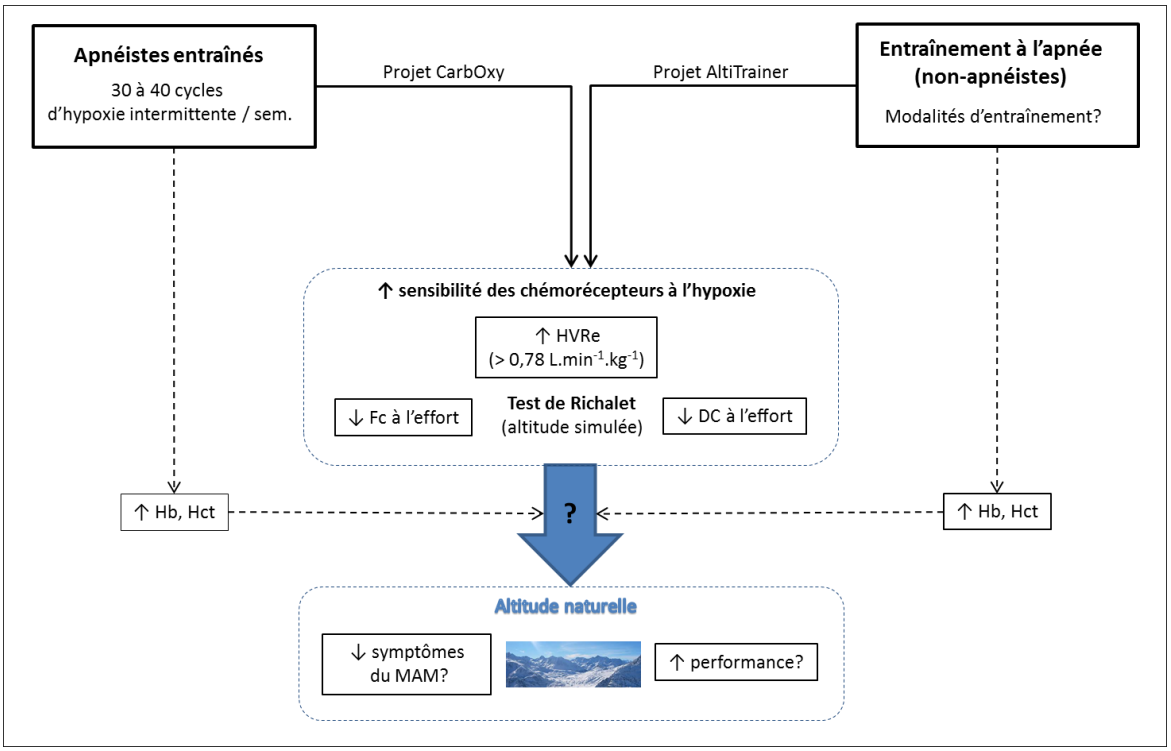


Figure 79 : Modifications ventilatoires et hémodynamiques chez les sujets très entraînés à l'apnée au cours du test en altitude simulée de « Richalet » (projet CarbOxy). HVRe, réponse ventilatoire à l'hypoxie pendant l'effort ; Fc, fréquence cardiaque ; DC, débit cardiaque, Hb, hémoglobine, Hct, hématocrite ; MAM, mal aigu des montagnes.

IV.3.3 Conclusion et perspectives

Cette étude montre que les apnéistes possèdent une hyper-sensibilité ventilatoire à l'hypoxie poïkilocapnique au repos et à l'effort. En revanche, leur réponse ventilatoire et hémodynamique à l'hypercapnie ne semble pas être affectée. A travers cette analyse, nos résultats tendent donc à montrer que l'entraînement à l'apnée pourrait constituer une alternative peu couteuse de pré-acclimatation en vue d'une ascension en haute altitude (**figure 79**). Une étude évaluant les effets d'un programme d'entraînement à l'apnée sur la réponse ventilatoire à l'hypoxie et les performances en altitude serait désormais indispensable pour répondre à cette hypothèse (**figure 79**).

IV.4 Etude 4 (projet Adéno)

IV.4.1 Discussion

Les principaux résultats de cette étude sont :

- Les concentrations plasmatiques en adénosine (CPA) de repos et de fin d'apnée sont plus élevées chez les apnéistes ayant déjà eu une PCB par rapport aux apnéistes n'en ayant jamais eu.
- Les CPA sont inversement corrélées aux Fc et aux SpO_2 enregistrées en fin d'apnée chez les apnéistes.

Cette étude est la première à évaluer les effets de l'apnée sous-maximale sur la CPA chez des apnéistes (Joulia et coll. 2013). Pendant l'apnée, nos résultats montrent que l'adénosine aurait un rôle important sur la survenue d'une PCB. En effet, nous avons retrouvé une CPA plus importante chez les apnéistes « syncopeurs » que chez les apnéistes « non-syncopeurs ». Ces observations couplées à l'amélioration des connaissances du système adénosinergique de ces dernières années permettent d'émettre des hypothèses sur les mécanismes physiopathologiques de la syncope en apnée.

En fin d'apnée, il est intéressant de souligner que la CPA dosée chez les « syncopeurs » est deux fois plus élevées (+ 100%) que celle des apnéistes « non-syncopeurs », alors que la différence de CPA de repos entre ces deux groupes n'est que de 34 %. Ainsi, il est peu probable que l'hyper adénosinémie de fin d'apnée chez les apnéistes « syncopeurs » soit le seul reflet d'une CPA de repos élevée. Étant donné que les SaO_2 enregistrées en fin d'apnée sont similaires entre les deux groupes, il est possible d'envisager que les apnéistes « syncopeurs » aient une susceptibilité à métaboliser davantage d'adénosine que les apnéistes « non-syncopeurs » pour une même « dose hypoxémique ». Cette interprétation ouvre des perspectives sur de possibles défaillances (e.g sous-régulation) du système enzymatique (e.g. adénosine kinase) à re-phosphoryler l'adénosine en AMP chez les apnéistes susceptibles de déclencher une syncope en fin d'apnée (**figure 80b**).

Il est désormais admis que le système adénosinergique possède des propriétés chronotropiques négatives *via* la liaison de l'adénosine sur ses récepteurs A_1 (Yang et coll. 2007). Ainsi, et compte tenu de la corrélation négative entre la bradycardie de fin d'apnée et la CPA de fin d'apnée (**figure 65b**), l'adénosine interviendrait, au même titre que l'acétylcholine, dans la bradycardie de fin d'apnée en se fixant sur ses récepteurs A_1 (**figure 80**). Chez les apnéistes susceptibles de développer une syncope, la bradycardie est accentuée

en fin d'apnée en raison d'une plus forte CPA. Dans le cadre de l'**étude 1**, nous avons montré que la fin d'une apnée statique s'accompagnait d'une augmentation du VES dont l'objectif premier était d'augmenter la perfusion cérébrale (**figure 55b**) (Costalat et coll. 2013). Dans le groupe d'apnéistes « syncopeurs », il est possible d'envisager que l'augmentation du VES en fin d'apnée ne puisse pas compenser l'exagération de la bradycardie induite par l'adénosine, ce qui provoquerait des troubles de la circulation cérébrale en parallèle de la baisse de l'oxygénation cérébrale (**figure 80b**). Cette hypothèse s'appuie sur les récents de travaux de Cross et *coll.*, qui ont observé que le caractère intermittent des contractions diaphragmatiques entraînaient des fluctuations de la pression artérielle se répercutant sur le débit sanguin cérébral (Cross et coll. 2013). Ces réponses seraient associées à une altération de l'autorégulation du débit sanguin cérébral générant une succession de légères hypoperfusions cérébrales intermittentes en fin d'apnée (Cross et coll. 2013; Cross et coll. 2014). La possibilité qu'une importante CPA favorise une altération de la transmission de l'influx électrique (ralentissement ou interruption) entre les ventricules et les oreillettes du cœur n'est également pas à exclure (Brignole et coll. 2015). Appelé bloc atrio-ventriculaire, ce mécanisme pourrait aussi augmenter le risque de survenue d'une syncope car il favoriserait, en sus d'une chute de l'oxygénation cérébrale, la baisse de la pression de perfusion cérébrale dont le seuil « critique » (pour développer une syncope) est estimé à 40 mmHg (Hainsworth 2004) (**figure 80b**).

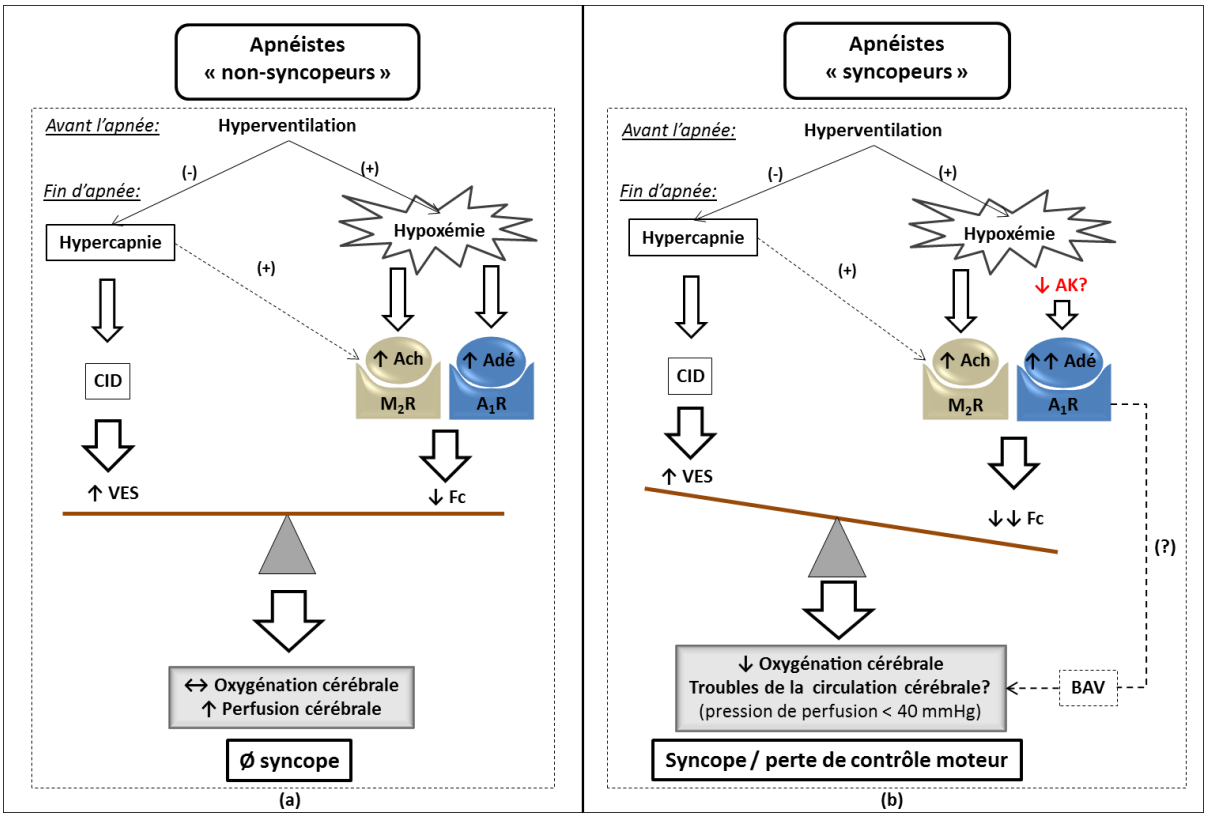


Figure 80 : Mécanismes impliqués dans la syncope au cours d'une apnée. AK, adénosine kinase ; Ach, acétylcholine ; Adé, adénosine ; M_2R, récepteurs muscariniques ; A_1R, récepteurs adénosinergiques ; CID, contractions involontaires du diaphragme ; VES, volume d'éjection systolique ; Fc, fréquence cardiaque ; BAV, bloc atrio-ventriculaire.

Enfin, les CPA mesurées au repos (avant l'apnée) étaient plus élevées pour l'ensemble des apnéistes que pour les sujets témoins. Nous avons retrouvé que cette différence de CPA par rapport au groupe témoin concernait uniquement le groupe d'apnéiste « syncopeurs ». Récemment, une équipe de recherche française a démontré que l'adénosinémie de repos comptait parmi les facteurs prédictifs de la syncope d'origine vasovagale[17], la cause la plus fréquente de PCB (**figure 81**) (Saadjian et coll. 2002; Deharo et coll. 2012; Deharo et coll. 2013).

[17] Le réflexe vasovagale déclenche une bradycardie et/ou une hypotension pouvant aboutir à une hypoperfusion cérébrale.

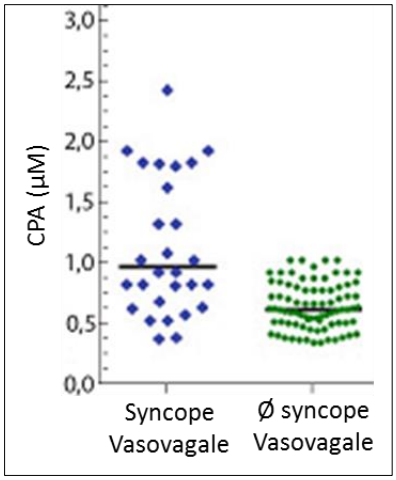


Figure 81 : Comparaison des concentrations plasmatiques en adénosine (CPA) chez 18 sujets « syncopeurs » (non-apnéistes) et 81 sujets témoins [d'après Brignole *et coll.* 2015 (chapitre d'ouvrage) ; tiré du livre *Vasovagal Syncope* édité par Alboni, 2015].

Les résultats présentés dans la **figure 81** sont très proches des CPA que nous avons dosées chez les apnéistes « syncopeurs » (médiane : 0,9 µM). De ce constat, l'hypothèse d'un profil purinergique commun entre les apnéistes « syncopeurs » et les patients « syncopeurs » a été proposée (Joulia et coll. 2013). Cependant, celle-ci a rapidement été réfutée puisque l'analyse du gène codant pour les récepteurs $A_{2A}R$ des apnéistes « syncopeurs » s'est finalement révélée différente du profil génétique de patients souffrant de syncopes vasovagales (Joulia et coll. 2014). En effet, un polymorphisme nucléotidique CC localisé sur le second exon[18] du gène codant pour les récepteurs $A_{2A}R$ est prédominant chez les patients « syncopeurs » (Saadjian et coll. 2009), ce qui n'est pas le cas des apnéistes « syncopeurs » (polymorphisme TC) (Joulia et coll. 2014). La mesure au repos de la CPA pourrait toutefois servir à prévoir et anticiper les apnéistes susceptibles de faire une syncope en fin d'apnée (Joulia et coll. 2013).

Dans la littérature, l'adénosine est souvent considérée comme ayant des effets cytotoxiques sur les cellules de l'organisme (Grenz et coll. 2011). Pourtant, des travaux ont récemment montré que ce dérivé purique activait des voies signalétiques pouvant avoir de nombreux effets cytoprotecteurs en réponse à l'ischémie-reperfusion[19] (Grenz et coll. 2011; Layland et coll. 2014). Le mécanisme d'ischémie-reperfusion peut par exemple être observé après la survenue de certaines pathologies cardiaques ou d'un accident vasculaire cérébral. L'augmentation des concentrations en adénosine après une apnée est un phénomène qu'il est

[18] Partie codante d'un gène.
[19] Interruption plus ou moins prolongée de l'apport sanguin à un tissu ou un organe (ischémie) suivie d'une restauration de l'apport sanguin vers ce même tissu ou organe (reperfusion). Le passage de l'ischémie à la reperfusion augmente la réponse pro-inflammatoire et il peut aboutir à des dommages irréversibles sur le tissu (nécrose cellulaire).

aussi possible d'observer après un pré-conditionnement hypoxique[20], une méthode à visée préventive diminuant et/ou retardant les effets délétères de l'ischémie-reperfusion (Maslov et coll. 2012). L'action bénéfique du pré-conditionnement hypoxique (ischémique) repose en grande partie sur une augmentation de la concentration en adénosine et de ses récepteurs spécifiques qui sont aujourd'hui reconnus pour leurs propriétés anti-inflammatoires, anti-nécrotiques et anti-apoptotiques sur les cellules de l'organisme (Grenz et coll. 2011; Headrick et coll. 2013; Layland et coll. 2014). Il est donc possible d'imaginer que les apnéistes, en raison de leur entraînement comprenant de courtes périodes d'hypoxémie-réoxygénation, puissent développer des mécanismes assez proches d'un pré-conditionnement hypoxique (Joulia et coll. 2009), rendant probablement cette population moins vulnérable aux effets néfastes de l'ischémie-reperfusion. Cette perspective « thérapeutique » reste bien évidemment une hypothèse et demande à être confirmée.

IV.4.2 Limites

L'interprétation des résultats de cette étude s'appuie en grande partie sur une analyse corrélative. Cet outil statistique quantifie l'intensité de la relation entre deux variables aléatoires, mais l'existence d'une corrélation significative n'implique pas nécessairement une relation de causalité entre ces variables. Toutefois, il existerait bien un lien entre la CPA, la bradycardie et l'occurrence d'une PCB au cours d'une apnée et ces résultats, compte tenu des connaissances scientifiques actuelles du système adénosinergique, nous ont tout de même permis d'émettre de nouvelles hypothèses sur la physiopathologie de la syncope en apnée.

IV.4.3 Conclusion et perspectives

Cette étude a permis d'éclaircir les mécanismes physiopathologiques intervenant dans la syncope en apnée, notamment grâce au dosage de la CPA avant, pendant et après une apnée sous-maximale. Par ailleurs, les résultats montrent que la mesure de ce bio-marqueur de l'hypoxie au repos peut constituer un facteur prédictif de survenue d'une perte de connaissance brève. Il serait ainsi possible de détecter les sujets susceptibles de développer une syncope au cours de l'apnée grâce au dosage de la CPA. Enfin, compte tenu des effets cytoprotecteurs de l'adénosine, ces résultats ouvrent aussi de nouvelles perspectives sur les effets potentiellement bénéfiques d'une utilisation de l'apnée dans un cadre préventif et/ou thérapeutique.

[20] Successions de brèves séquences d'ischémies (hypoxie) / reperfusions (réoxygénation).

IV.5 Étude 5 (projet IHE)

IV.5.1 Discussion

Les principaux résultats de cette étude montrent chez des sujets obèses ou en surpoids :

- Une baisse de la glycémie et une hausse des lactates après une séance d'HI, ce qui n'est pas le cas après deux semaines d'HI.
- Une baisse de la pression artérielle systolique et du cholestérol (LDLc) après deux semaines d'HI, sans modification des autres paramètres lipidiques.

La présente étude révèle tout d'abord que l'HI « modéré » a des effets immédiats sur le contrôle de la glycémie chez des personnes obèses ou en surpoids. En effet, nous sommes parvenus à montrer qu'une seule session d'HI passive (FiO_2 = 10% ; $\overline{Sa\,O_2}$ = 80%) abaisse le taux de glucose artériel d'environ 13,5% ($p < 0,05$), alors que la même session placebo (*sham*) n'a pas d'effet sur cette variable (**figure 66**). Cette baisse s'accompagne d'une augmentation de la lactatémie, certes modeste (+29%), mais significative suite à la session d'HI ($p < 0,01$). Ceci traduit très certainement une sollicitation plus importante de la glycolyse anaérobie *via* l'effet pasteur[21] (Sakata et coll. 2000), *in fine* responsable de l'effet hypoglycémiant constaté après la session d'HI. Notre étude confirme donc le récent travail de Duennwald *et coll.* qui avait montré qu'une session d'HI de 60 minutes incluant 5 cycles d'hypoxie-réoxygénation de 6 minutes (FiO_2 = 13%) abaissait la glycémie d'environ 25% chez des diabétiques de type II (Duennwald et coll. 2013). Chez le seul de nos participants obèses ayant une glycémie à jeun rentrant dans les critères diagnostics du diabète de type 2 (> 7 $mmol.L^{-1}$), il est intéressant de souligner que la baisse de sa glycémie (24%) est comparable à l'étude de Duennwald *et coll.* Dans une autre étude, McKenzie *et coll.* ont aussi remarqué des effets hypoglycémiants au cours d'une exposition continue à l'hypoxie (FiO_2 = 14,6%) chez des diabétiques de type 2, mais la baisse n'était que de 10% alors que l'exposition à l'hypoxie était de 60 minutes (Mackenzie et coll. 2011). Les phases de réoxygénation de l'HI sont à l'origine d'une production de radicaux libres (Maslov et coll. 2012) qui, en faible quantité, joue un rôle majeur de second messager dans la grande majorité des voies de signalisation intracellulaire (Rhee 1999). Ces phases de réoxygénation pourraient donc davantage stimuler l'AMPK (cf. pages 61-62), très sensible aux radicaux libres, ce qui expliquerait des effets hypoglycémiants plus prononcés en HI par rapport à l'hypoxie

[21] Dans un milieu hypoxique, passage de la phosphorylation oxydative à la glycolyse anaérobie pour la production d'ATP. Dans ces circonstances, le glucose est le substrat privilégié pour la production énergétique.

administrée de façon continue. La possibilité d'une différence entre ces deux expositions (intermittente vs continue) reste bien évidemment une hypothèse et une comparaison directe entre les deux méthodes doit être conduite pour y répondre.

Pour autant, nos 10 séances d'HI réparties sur 2 semaines n'ont pas été en mesure de modifier le taux de glucose à jeun de nos 6 participants (**figure 67**). La dose hypoxique administrée à nos sujets était probablement insuffisante pour espérer des changements persistants de la glycémie. Il est aussi possible d'imaginer que les sujets ayant une glycémie anormalement élevée tirent davantage de bénéfices des effets hypoglycémiants de l'HI. Par exemple, seul un de nos sujets était dans ce cas de figure, et les deux semaines de protocoles ont entraîné une chute de plus de 20% de sa glycémie. Quels qu'en soient les motifs, nous pouvons néanmoins remarquer que ce type de protocole ne perturbe pas la sensibilité des cellules au glucose. En effet, en aucun cas une hausse de la glycémie n'a pu être observée au terme du protocole pour l'ensemble des sujets. Ces premiers résultats s'opposent ainsi aux effets de l'HI « sévère » qui sont susceptibles de perturber le métabolisme glucidique chez l'individu sain en augmentant *in fine* la probabilité de développer une insulino-résistance pérenne (Louis et Punjabi 2009; Briançon-Marjollet et coll. 2015). Des modèles animaux ont en effet démontré que l'administration d'une dose « sévère » d'HI favorisait une production excessive de radicaux libres, à l'origine de dommages cellulaires au niveau du foie (Rosa et coll. 2011) et du pancréas (Wang et coll. 2013) ainsi qu'une inhibition de la translocation des GLUT-4 (Carreras et coll. 2012).

Par ailleurs, notre étude montre qu'un programme de deux semaines d'HI entraîne des effets hypolipidémiants avec notamment une chute des LDLc (**figure 67**). Le programme n'ayant pas eu d'effet sur les HDLc, il en résulte une baisse du rapport LDLc / HDLc, un indicateur très utilisé pour estimer le risque de survenue d'une pathologie cardio-vasculaire (Davis et coll. 2015). Malheureusement, les paramètres mesurés ne nous permettent pas encore d'expliquer les mécanismes à l'origine de la baisse des LDLc même si deux scénarios peuvent tout de même être envisagés :

- L'hypoxie stimulerait les réactions de type monooxygénase tout en inhibant l'HMG-CoA réductase[22] *via* la staibilisation d'HIF-1 à l'intérieur des hépatocytes, ce qui réduirait la bio-synthèse du cholestérol (Tin'kov et Aksenov 2002; Nguyen et coll. 2007; DeBose-Boyd 2008). De plus, les hausses de l'activité enzymatique

[22] Hydroxyméthylglutaryl-CoA réductase. Enzyme contrôlant la voie métabolique du mévalonate, précurseur de la synthèse du cholestérol.

de la 7-α-hydroxylase[23] et de la concentration plasmatique en acides biliaires lors de l'hypoxie argumenteraient en faveur de cette hypothèse (Tin'kov et Aksenov 2002).

- L'activation de l'AMPK par l'hypoxie inhiberait la stearoyl-Co1 desaturase-1, entraînant une baisse de la production de lipoprotéines de très basse densité[24] (VLDLc) au niveau des hépatocytes (**figure 82**) (Ling et coll. 2008).

À l'image de la régulation du glucose, nos résultats contredisent les résultats des protocoles d'HI « sévères » qui sont systématiquement corrélés à une hausse de la cholestérolémie (Adedayo et coll. 2014). Les mécanismes physiopathologiques par lesquels l'HI « sévère » entraînerait des effets néfastes sur le profil lipidique font débat, mais le stress oxydant associé à un dysfonctionnement du tonus sympathique fait actuellement partie des pistes privilégiées (**figure 82**) (Adedayo et coll. 2014).

Nous avons ensuite montré qu'un programme de deux semaines d'HI serait en mesure d'atténuer la pression artérielle (systolique), un effet hypotenseur potentiellement intéressant chez certaines personnes atteintes d'obésité (**figure 68**). En effet, bien que les sujets étudiés soient normo-tendus, les études épidémiologiques ont montré que le diagnostic d'une hypertension artérielle augmentait sensiblement avec la prise de poids (*odds ratio*) : 1,7 chez les personnes en surpoids, 2,6 chez les obèses de type I et plus de 3,7 dans le cas d'obésités sévères (Nguyen et coll. 2008). Nos résultats vont dans le sens du travail de Lyamina *et coll.*, seule étude s'étant intéressée aux effets de l'HI « modérée » sur la régulation de la pression artérielle chez l'être humain (Lyamina et coll. 2011). Dans une population atteinte d'hypertension (stade I[25]), 4 à 10 cycles d'HI (FiO_2 = 10%, 3 min en hypoxie – 3 min en normoxie) pendant 20 jours ont entraîné une chute de la pression artérielle avec un retour à des niveaux comparables à ceux de sujets normo-tendus[26] dans 92% des cas. De plus, une hausse de 29% des métabolites du monoxyde d'azote (NOx) a été retrouvée, synonyme d'une augmentation de la synthèse de monoxyde d'azote[27] (NO) (Lyamina et coll. 2011). D'après les auteurs, une des hypothèses expliquant l'augmentation de la biodisponibilité du NO pourrait être la stimulation des systèmes enzymatiques antioxydants induite par l'HI (e.g superoxyde dismutase, catalase) (Asha Devi et coll. 2005). En effet, la formation de radicaux libres imputable à la phase de réoxygénation de l'HI joue un rôle signalétique crucial sur les

[23] Enzyme clé de la transformation du cholestérol en acides biliaires.
[24] Les LDL sont formées à partir des VLDL.
[25] Stade I : systolique : 140-159 mmHg / diastolique : 90-99 mmHg.
[26] < 140/90 mmHg.
[27] Produit par l'endothélium vasculaire, le NO est un puissant vasodilatateur en raison de son effet relaxant sur les muscles lisses de la paroi des vaisseaux sanguins.

cascades de réactions à l'origine des effets cytoprotecteurs d'un pré-conditionnement hypoxique, dont l'amélioration des capacités antioxydantes (Zuo et coll. 2013). Sachant que les radicaux libres inhibent la biodisponibilité du NO (Lavie et Lavie 2009), un programme d'HI « modérée » pourrait réduire le stress oxydant en raison d'une amélioration des processus endogènes antioxydants, ce qui augmenterait la biodisponibilité du NO (Lyamina et coll. 2011). Dans notre étude, l'effet hypotenseur que nous avons constaté après les deux semaines d'HI pourrait donc être d'origine endothéliale *via* une augmentation de la synthèse de NO (**figure 82**). Il est en effet peu probable que les effets hypotenseurs de l'HI soient d'origine hémodynamique *(*baisse du DC), puisque l'activité parasympathique cardiaque et la Fc de repos n'ont pas changé à la suite du protocole (en considérant un VES stable) (**figure 68**). Par opposition, l'HI « sévère » provoque dans la majorité des cas une élévation de la pression artérielle (Mateika et coll. 2015). Ce type de protocole s'accompagne en effet d'une formation excessive de radicaux libres, ce qui favoriserait la production d'endothéline-1, un vasoconstricteur sécrété par les cellules endothéliales (Serebrovskaya et coll. 2008). L'HI « sévère » entraîne aussi une augmentation du tonus sympathique, des catécholamines, et de la sécrétion d'angiotensine II qui sont (endotheline-1 incluse) à l'origine des mécanismes physiopathologiques de l'hypertension artérielle chez des patients souffrant d'apnée du sommeil (**figure 82**) (Prabhakar et Kumar 2010).

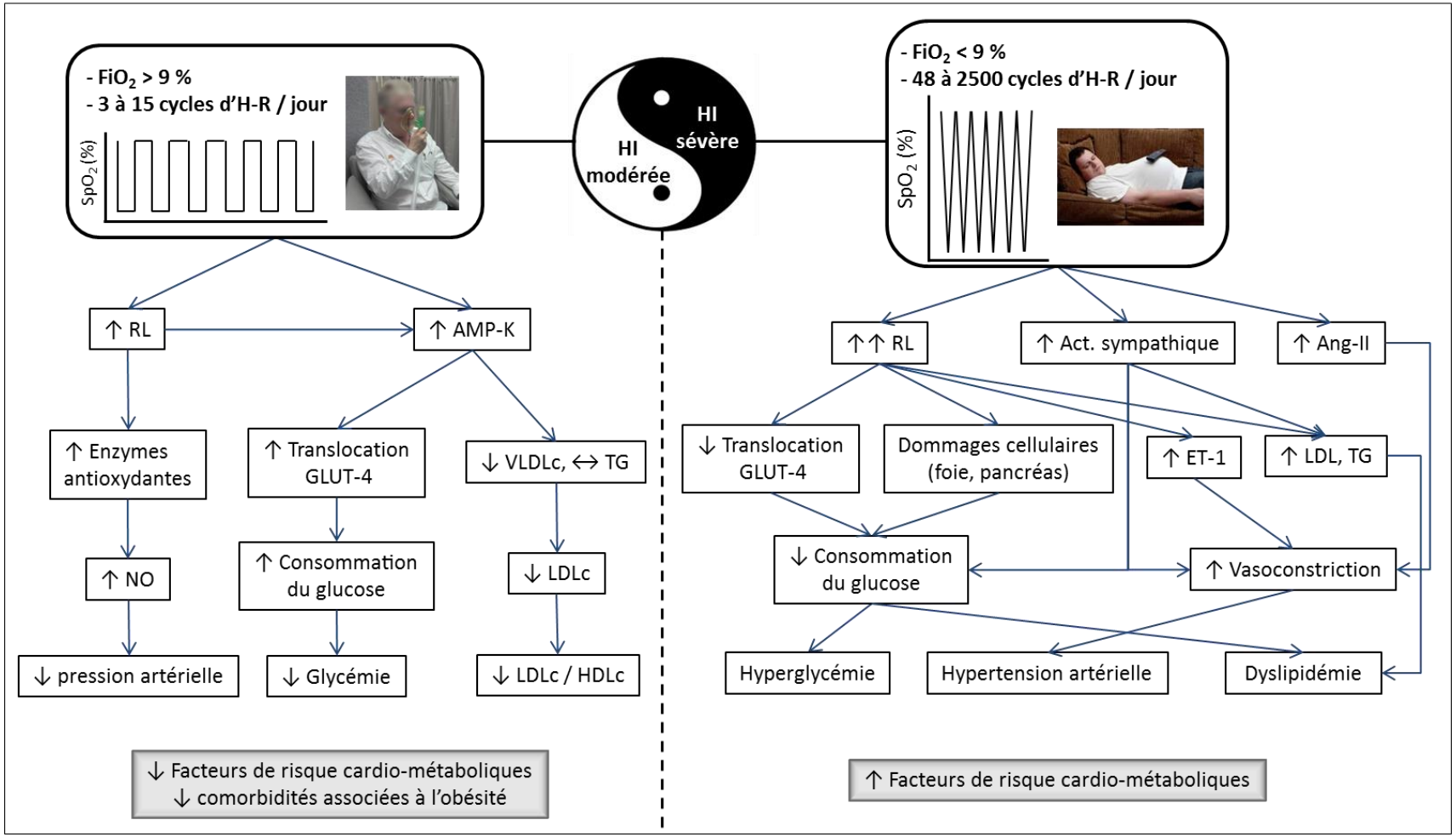


Figure 82 : Proposition de schématisation des effets ambivalents de l'hypoxie intermittente sur les principaux facteurs de risque cardio-métaboliques. HI, hypoxie intermittente ; H-R, hypoxie-réoxygénation ; RL, radicaux libres ; AMPK, protéine kinase activée par l'AMP ; Ang-II, angiotensine II ; GLUT-4, transporteurs du glucose de type 4 ; ET-1, endothéline 1 ; VLDL, lipoprotéines de très basse densité ; LDLc, lipoprotéines de basse densité transportant le cholestérol ; HDLc, lipoprotéines de haute densité transportant le cholestérol ; FiO_2, fraction d'oxygène inspirée.

Soulignons enfin que notre étude s'appuie sur une approche du concept de dose hypoxique sensiblement différente de la plupart des protocoles d'HI. Nous avons en effet privilégié une méthodologie dont le critère principal d'évaluation de la dose repose sur la SpO_2 moyenne au cours d'une séance (80%, **figure 37**), alors que la plupart des protocoles d'HI ont tendance à la quantifier à partir d'une FiO_2 (e.g. 10%) et d'un temps de désaturation prédéterminé (e.g. 5 min d'hypoxie / 5 min en normoxie) (Burtscher et coll. 2009; Lyamina et coll. 2011; Trumbower et coll. 2012; Serebrovskaya et coll. 2013; Hayes et coll. 2014). Cette méthode pourrait poser problème en cas de fortes disparités d'HVR entre les participants. Ainsi, ces études ont probablement fait l'objet de disparités inter-individuelles en terme de cinétiques de désaturation (mais aussi de resaturation), pouvant conduire à un degré d'hypoxémie très hétérogène entre les sujets tout au long du protocole. À l'inverse, dans notre étude, l'évaluation de la dose hypoxique à partir du critère de la SpO_2 a permis de prendre en compte les éventuelles disparités d'HVR et d'assurer un degré d'hypoxémie homogène entre les participants tout au long du programme d'intervention (Tobin 2011).

IV.5.2 Limites

L'absence d'une analyse *a priori* de la puissance statistique et le peu de sujets inclus dans cette étude (6) marquent les principales limites de cette étude. Au sens statistique, ce nombre ne peut en effet garantir une puissance suffisante. La probabilité d'avoir commis une erreur de seconde espèce (de type II) augmente donc, ce qui peut *in fine* limiter l'interprétation des résultats de ce travail. Ces derniers peuvent néanmoins être qualifiés de « prometteurs », et justifient de ce fait l'inclusion de sujets supplémentaires. Comme cela a été fait au cours de nos précédentes études, la taille de l'échantillon « optimale » est souvent déterminée à partir des moyennes et écarts-types issus de travaux publiés (Prajapati et coll. 2010). Lorsque cela n'est pas possible, une seconde possibilité consiste à conduire une étude pilote afin d'estimer la taille de l'effet à partir de la variable d'investigation principale (Prajapati et coll. 2010). Sachant que les effets de l'HI sur les facteurs de risques cardio-métaboliques n'ont jamais été étudiés, notre étude permet dorénavant d'estimer la taille de l'effet afin d'en déduire la taille de l'échantillon. Avec une erreur de type I de 5%, et à partir des résultats de notre étude, il serait nécessaire d'inclure 7 sujets supplémentaires pour réduire significativement la probabilité de commettre une erreur de type II (puissance statistique de 83% avec LDLc comme variable d'investigation principale).

IV.5.3 Conclusion et perspectives

L'hypoxie intermittente est souvent perçue comme un stimulus à haut risque. La plupart des modèles d'HI ont en effet été développés pour reproduire les cycles d'hypoxie-réoxygénation chroniques auxquels les personnes souffrant d'apnées obstructives du sommeil sont systématiquement confrontées. S'appuyant sur des doses « sévères » d'HI, ces protocoles ont montré à maintes reprises des effets nuisibles sur la santé cardiovasculaire, respiratoire, métabolique et cognitive (Drager et coll. 2010; Moreau 2013; Navarrete-Opazo et Mitchell 2014).

Pourtant, la présente étude a permis de révéler que l'administration d'une dose « modérée » d'HI était en mesure de réduire certains facteurs de risques cardio-métaboliques, faisant de ce modèle d'hypoxie une thérapeutique non médicamenteuse prometteuse dans la prise en charge des personnes obèses. L'inclusion de 7 sujets supplémentaires est toutefois indispensable pour satisfaire les critères statistiques et consolider ces premiers résultats encourageants.

La dose hypoxique administrée apparaît donc comme le facteur clé (**figure 82**), de la même façon que celle-ci joue un rôle primordial sur l'amélioration des performances sportives (Chapman et coll. 2014). Le rôle et la vision de l'HI sont actuellement en pleine mutation, la littérature actuelle insistant dorénavant sur les effets ambivalents de l'HI : bénéfiques en cas de dose « modérée » ou aux conséquences délétères quand une dose « sévère » est administrée (Almendros et coll. 2014; Navarrete-Opazo et Mitchell 2014; Dempsey et Morgan 2015; Mateika et coll. 2015; Verges et coll. 2015).

PARTIE V :

CONCLUSION GÉNÉRALE

Le premier objectif de ce mémoire de thèse était d'approfondir les connaissances sur les réponses hémodynamiques à l'hypoxie chez le sujet sain, en prenant comme support une pratique dite extrême : l'apnée sportive. À travers la construction de modèles de régression non-linéaire et linéaire, nous avons mis en évidence l'existence d'un événement physiologique auparavant inconnu au cours de l'apnée, i.e. le « point d'économie d'oxygène » (études 1 et 2). Présent lors de l'apnée en l'immersion, à l'air libre ou même en condition de laboratoire, celui-ci marque le point de départ d'une remarquable rupture de la cinétique hémodynamique du réflexe de plongée dont l'objectif premier est de renforcer les aptitudes du réflexe à économiser les stocks en oxygène. L'hypoxémie, et dans une moindre mesure l'hypercapnie, apparaissent comme les déterminants clés à l'origine d'une accentuation des manifestations cardiovasculaires du réflexe de plongée.

Par ailleurs, nous avons observé que ce nouveau concept de « point d'économie d'oxygène » s'applique exclusivement aux apnéistes entraînés. Ainsi, les effets de l'entraînement à l'apnée conduiraient à une augmentation de la chémosensibilité à l'hypoxie, ce qui expliquerait pourquoi nous avons retrouvé une hausse de la réponse ventilatoire à l'hypoxie poïkilocapnique chez les apnéistes entraînés (étude 3). Ce paramètre étant le premier indicateur physiologique d'une bonne acclimatation à l'hypoxie d'altitude ; cela laisse entrevoir des perspectives intéressantes sur l'utilisation de l'apnée comme alternative peu couteuse de pré-acclimatation à l'altitude naturelle.

À travers le dosage de l'adénosine, nous montrons que l'hypoxémie constitue une pièce maîtresse dans la physiopathologie de la syncope (étude 4). En effet, bien que les stratégies hémodynamiques adoptées par les apnéistes constituent une réponse efficace pour ralentir l'hypoxie des tissus nobles (e.g. cœur, cerveau), celles-ci ne semblent pas empêcher la survenue d'une hypoxie cérébrale extrême, susceptible de déclencher une syncope en fin d'apnée chez certains individus.

Sur le plan métabolique, l'hypoxie est également la première cause d'un dysfonctionnement des cellules adipeuses, elles-mêmes impliquées dans la physiopathologie des comorbidités associées à l'obésité. Paradoxalement, nous montrons que l'administration d'une dose hypoxique modérée et intermittente parviendrait à réduire certains facteurs de risques cardio-métaboliques chez des personnes obèses ou en surpoids (étude 5). Dans un contexte pathologique, l'hypoxie aurait donc des effets à « double tranchant », faisant de cet environnement une cause, mais aussi une thérapeutique non médicamenteuse prometteuse dans la prise en charge de personnes souffrant de troubles métaboliques.

BIBLIOGRAPHIE

Adedayo AM, Olafiranye O, Smith D, Hill A, Zizi F, Brown C, Jean-Louis G (2014) Obstructive sleep apnea and dyslipidemia: evidence and underlying mechanism. Sleep & breathing = Schlaf & Atmung 18 (1):13-18.

Agostoni E (1963) Diaphragm activity during breath holding: factors related to its onset. Journal of Applied Physiology 18 (1):30-36.

Akaike H (1974) A new look at the statistical model identification. Automatic Control, IEEE Transactions on 19 (6):716-723.

Albert B, Craig JR (1961) Causes of loss of consciousness during underwater swimming. Journal of Applied Physiology 16 (4):583-586.

Alboni P, Alboni M, Gianfranchi L (2011) Diving bradycardia: a mechanism of defence against hypoxic damage. J Cardiovasc Med 12 (6):422-427.

Almendros I, Wang Y, Gozal D (2014) The polymorphic and contradictory aspects of intermittent hypoxia. American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology 307 (2):L129-L140.

Amann M (2012) Pulmonary system limitations to endurance exercise performance in humans. Exp Physiol 97 (3):311-318.

Ambrosini G, Nath AK, Sierra-Honigmann MR, Flores-Riveros J (2002) Transcriptional activation of the human leptin gene in response to hypoxia. Involvement of hypoxia-inducible factor 1. J Biol Chem 277 (37):34601-34609.

Andersen HT (1966) Physiological adaptations in diving vertebrates. Physiological Reviews 46 (2):212-243.

Andersson J, Schagatay E (1998) Arterial oxygen desaturation during apnea in humans. Undersea Hyperb Med 25 (1):21-25.

Andersson J, Schagatay E, Gislen A, Holm B (2000) Cardiovascular responses to cold-water immersions of the forearm and face, and their relationship to apnoea. Eur J Appl Physiol 83 (6):566-572.

Andersson JP, Evaggelidis L (2009) Arterial oxygen saturation and diving response during dynamic apneas in breath-hold divers. Scand J Med Sci Sports 19 (1):87-91.

Andersson JP, Schagatay E (2009) Repeated apneas do not affect the hypercapnic ventilatory response in the short term. Eur J Appl Physiol 105 (4):569-574.

Andersson JPA, Biasoletto-Tjellström G, Schagatay EKA (2008) Pulmonary gas exchange is reduced by the cardiovascular diving response in resting humans. Respiratory Physiology & Neurobiology 160 (3):320-324.

Andersson JPa, Linér MH, Fredsted A, Schagatay EKa (2004) Cardiovascular and respiratory responses to apneas with and without face immersion in exercising humans. Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985) 96:1005-1010.

Andersson JPA, Linér MH, Jönsson H (2009) Increased serum levels of the brain damage marker S100B after apnea in trained breath-hold divers: a study including respiratory and cardiovascular observations. Journal of Applied Physiology 107 (3):809-815.

Andersson JPA, Linér MH, Rünow E, Schagatay EKA (2002) Diving response and arterial oxygen saturation during apnea and exercise in breath-hold divers. Journal of Applied Physiology 93 (3):882-886.

Arborelius M, Jr., Ballidin UI, Lilja B, Lundgren CE (1972) Hemodynamic changes in man during immersion with the head above water. Aerosp Med 43 (6):592-598.

Asha Devi S, Subramanyam MV, Vani R, Jeevaratnam K (2005) Adaptations of the antioxidant system in erythrocytes of trained adult rats: impact of intermittent hypobaric-hypoxia at two altitudes. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol 140 (1):59-67.

Asmussen E, Kristiansson NG (1968) The “diving bradycardia” in exercising man. Acta physiologica Scandinavica 73 (4):527-535.

Astrand I (1960) Aerobic work capacity in men and women with special reference to age. Acta Physiol Scand Suppl 49 (169):1-92.

Åstrand P-O, Ryhming I (1954) A Nomogram for Calculation of Aerobic Capacity (Physical Fitness) From Pulse Rate During Submaximal Work, vol 7. vol 2.

Ayers AB, Davies BN, Withrington PG (1972) Responses of the isolated, perfused human spleen to sympathetic nerve stimulation, catecholamines and polypeptides. British journal of pharmacology 44 (1):17-30.

Bailey DM, Davies B, Milledge JS, Richards M, Williams SR, Jordinson M, Calam J (2000) Elevated plasma cholecystokinin at high altitude: metabolic implications for the anorexia of acute mountain sickness. High altitude medicine & biology 1 (1):9-23.

Bakovic D, Eterovic D, Saratlija-Novakovic Z, Palada I, Valic Z, Bilopavlovic N, Dujic Z (2005) Effect of human splenic contraction on variation in circulating blood cell counts. Clinical and experimental pharmacology & physiology 32 (11):944-951.

Baković D, Valic Z, Eterović D, Vuković I, Obad A, Marinović-Terzić I, Dujić Ze (2003) Spleen volume and blood flow response to repeated breath-hold apneas. Journal of Applied Physiology 95 (4):1460-1466.

Bartsch P, Dehnert C, Friedmann-Bette B, Tadibi V (2008) Intermittent hypoxia at rest for improvement of athletic performance. Scand J Med Sci Sports 1:50-56.

Barwood MJ, Dalzell J, Datta AK, Thelwell RC, Tipton MJ (2006) Breath-hold performance during cold water immersion: effects of psychological skills training. Aviat Space Environ Med 77 (11):1136-1142.

Bascom DA, Clement ID, Cunningham DA, Painter R, Robbins PA (1990) Changes in peripheral chemoreflex sensitivity during sustained, isocapnic hypoxia. Respiration physiology 82 (2):161-176.

Basovich SN (2013) Trends in the use of preconditioning to hypoxia for early prevention of future life diseases. Biosci Trends 7 (1):23-32.

Bebout DE, Story D, Roca J, Hogan MC, Poole DC, Gonzalez-Camarena R, Ueno O, Haab P, Wagner PD (1985) Effects of altitude acclimatization on pulmonary gas exchange during exercise. J Appl Physiol 67 (6):2286-2295.

Becker BE, Hildenbrand K, Whitcomb RK, Sanders JP (2009) Biophysiologic effects of warm water immersion. Int J Aquatic Res Educ 3:24-37.

Beidleman BA, Muza SR, Fulco CS, Cymerman A, Ditzler D, Stulz D, Staab JE, Skrinar GS, Lewis SF, Sawka MN (2004) Intermittent altitude exposures reduce acute mountain sickness at 4300 m. Clin Sci 106 (3):321-328.

Beidleman BA, Muza SR, Fulco CS, Cymerman A, Ditzler DT, Stulz D, Staab JE, Robinson SR, Skrinar GS, Lewis SF, Sawka MN (2003) Intermittent altitude exposures improve muscular performance at 4,300 m. Journal of Applied Physiology 95 (5):1824-1832.

Beidleman BA, Muza SR, Fulco CS, Cymerman A, Sawka MN, Lewis SF, Skrinar GS (2008) Seven intermittent exposures to altitude improves exercise performance at 4300 m. Med Sci Sports Exerc 40 (1):141-148.

Belikova M, Kolesnikova E, Serebrovskaya T (2012) Intermittent Hypoxia and Experimental Parkinson’s Disease. In: Xi L, Serebrovskaya TV (eds) Intermittent Hypoxia and Human Diseases. Springer London, pp 147-153.

Bender PR, McCullough RE, McCullough RG, Huang SY, Wagner PD, Cymerman A, Hamilton AJ, Reeves JT (1989) Increased exercise SaO2 independent of ventilatory acclimatization at 4,300 m. J Appl Physiol 66 (6):2733-2738.

Berezovsky VA, Deinega VG, Nosar VI, Bogomolerz VI (1985) [effect of artificial mountain climate on respiration and blood circulation in coal-miners suffering from chronic dust bronchitis]. Fiziol Zh 31 (5):619-623.

Bergman SA, Jr., Campbell JK, Wildenthal K (1972) "Diving reflex" in man: its relation to isometric and dynamic exercise. J Appl Physiol 33 (1):27-31.

Bernardi L, Passino C, Serebrovskaya Z, Serebrovskaya T, Appenzeller O (2001) Respiratory and cardiovascular adaptations to progressive hypoxia. European Heart Journal 22 (10):879-886.

Berntson GG, Quigley KS, Jang JF, Boysen ST (1990) An approach to artifact identification: application to heart period data. Psychophysiology 27 (5):586-598.

Bert P (1870) Leçons sur la physiologie comparée de la respiration. Paris, Baillère et fils:588.

Bevington PR, Robinson DK (2003) Data reduction and error analysis for the physical sciences. McGraw-Hill.

Binzoni T, Cooper CE, Wittekind AL, Beneke R, Elwell CE, Van De Ville D, Leung TS (2010) A new method to measure local oxygen consumption in human skeletal muscle during dynamic exercise using near-infrared spectroscopy. Physiol Meas 31 (9):1257-1269.

Bisgard GE, Forster HV (2010) Ventilatory Responses to Acute and Chronic Hypoxia. In: Comprehensive Physiology. John Wiley & Sons, Inc.

Bjurstrom RL, Schoene RB (1987) Control of ventilation in elite synchronized swimmers. Journal of applied physiology 63:1019-1024.

Blaak EE, van Baak MA, Kemerink GJ, Pakbiers MT, Heidendal GA, Saris WH (1995) Beta-adrenergic stimulation and abdominal subcutaneous fat blood flow in lean, obese, and reduced-obese subjects. Metabolism: clinical and experimental 44 (2):183-187.

Bogui P, Balayssac-Siransy E, Connes P, Tuo N, Ouattara S, Pichon A, Dah CS (2013) The PhysioFlow Thoracic Impedancemeter Is Not Valid for the Measurements of Cardiac Hemodynamic Parameters in Chronic Anemic Patients. PloS one 8 (10):e79086.

Bonaventura JM, Sharpe K, Knight E, Fuller KL, Tanner RK, Gore CJ (2015) Reliability and Accuracy of Six Hand-Held Blood Lactate Analysers. Journal of sports science & medicine 14 (1):203.

Bondia-Pons I, Ryan L, Martinez JA (2012) Oxidative stress and inflammation interactions in human obesity. Journal of Physiology and Biochemistry 68 (4):701-711.

Bougault V, Lonsdorfer-Wolf E, Charloux A, Richard R, Geny B, Oswald-Mammosser M (2005) Does thoracic bioimpedance accurately determine cardiac output in COPD patients during maximal or intermittent exercise? Chest 127:1122-1131.

Bour F (2012) Special instructions for research protocols involving physioflow®. version 0.3.

Bourdas DI, Tsakiris TS, Konstantopoulos AI, Triantafillou DV, Geladas ND (2014) Hypercapnic Ventilatory Response: A Comparison Between Elite and Novice Skin Divers. Open Sports Medicine Journal 8:16-22.

Bourdas DI, Tsakiris TS, Pavlakis KI, Triantafillou DV, Geladas ND (2015) Repeated Apneas and Hypercapnic Ventilatory Response Before and After Apnea Training. Aviation, Space, and Environmental Medicine 86 (1):27-33.

Boushel R (2010) Muscle metaboreflex control of the circulation during exercise. Acta Physiol 199 (4):367-383.

Breskovic T, Ivancev V, Banic I, Jordan J, Dujic Z (2010a) Peripheral chemoreflex sensitivity and sympathetic nerve activity are normal in apnea divers during training season. Auton Neurosci 154 (1-2):42-47.

Breskovic T, Lojpur M, Maslov PZ, Cross TJ, Kraljevic J, Ljubkovic M, Marinovic J, Ivancev V, Johnson BD, Dujic Z (2012) The influence of varying inspired fractions of O(2) and CO(2) on the development of involuntary breathing movements during maximal apnoea. Respir Physiol Neurobiol 181 (2):228-233.

Breskovic T, Uglesic L, Zubin P, Kuch B, Kraljevic J, Zanchi J, Ljubkovic M, Sieber A, Dujic Z (2011) Cardiovascular changes during underwater static and dynamic breath-hold dives in trained divers. J Appl Physiol 111 (3):673-678.

Breskovic T, Valic Z, Lipp A, Heusser K, Ivancev V, Tank J, Dzamonja G, Jordan J, Shoemaker JK, Eterovic D, Dujic Z (2010b) Peripheral chemoreflex regulation of sympathetic vasomotor tone in apnea divers. Clin Auton Res 20 (2):57-63.

Briançon-Marjollet A, Weiszenstein M, Henri M, Thomas A, Godin-Ribuot D, Polak J (2015) The impact of sleep disorders on glucose metabolism: endocrine and molecular mechanisms. Diabetology & Metabolic Syndrome 7:25.

Brignole M (2005) Neurally-mediated syncope. Ital Heart J 6 (3):249-255.

Brignole M, Deharo J-C, Guieu R (2015) Syncope and Idiopathic (Paroxysmal) AV Block. Cardiology Clinics 33 (3):441-447.

Broch OJ, Ueland PM (1980) Regional and subcellular distribution of S-adenosylhomocysteine hydrolase in the adult rat brain. J Neurochem 35 (2):484-488.

Brugniaux JV, Pialoux V, Foster GE, Duggan CT, Eliasziw M, Hanly PJ, Poulin MJ (2011) Effects of intermittent hypoxia on erythropoietin, soluble erythropoietin receptor and ventilation in humans. The European respiratory journal : official journal of the European Society for Clinical Respiratory Physiology 37 (4):880-887.

Brugniaux JV, Schmitt L, Robach P, Jeanvoine H, Zimmermann H, Nicolet G, Duvallet A, Fouillot JP, Richalet JP (2006) Living high-training low: tolerance and acclimatization in elite endurance athletes. Eur J Appl Physiol 96 (1):66-77.

Buchheit M, Richard R, Doutreleau S, Lonsdorfer-Wolf E, Brandenberger G, Simon C (2004a) Effect of acute hypoxia on heart rate variability at rest and during exercise. Int J Sports Med 25 (4):264-269.

Buchheit M, Simon C, Piquard F, Ehrhart J, Brandenberger G (2004b) Effects of increased training load on vagal-related indexes of heart rate variability: a novel sleep approach. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology 287 (6):H2813-H2818.

Bulatov PC, Uspenskaja EP, Egorov MI (1977) Immediate and long-term results of barotherapy bronchial asthma and high-risk bronchial asthma patients. Bronchial asthma:81-82.

Bullon P, Newman HN, Battino M (2014) Obesity, diabetes mellitus, atherosclerosis and chronic periodontitis: a shared pathology via oxidative stress and mitochondrial dysfunction? Periodontology 2000 64 (1):139-153.

Burnham KPADR (2010) Model selection and multimodel inference : a practical information-theoretic approach. Springer, New York, NY [u.a.

Burtscher M, Brandstatter E, Gatterer H (2008) Preacclimatization in simulated altitudes. Sleep & breathing = Schlaf & Atmung 12 (2):109-114.

Burtscher M, Haider T, Domej W, Linser T, Gatterer H, Faulhaber M, Pocecco E, Ehrenburg I, Tkatchuk E, Koch R, Bernardi L (2009) Intermittent hypoxia increases exercise tolerance in patients at risk for or with mild COPD. Respiratory physiology & neurobiology 165 (1):97-103.

Butler PJ, Woakes AJ (1987) Heart rate in humans during underwater swimming with and without breath-hold. Respir Physiol 69 (3):387-399.

Butterfield GE, Gates J, Fleming S, Brooks GA, Sutton JR, Reeves JT (1992) Increased energy intake minimizes weight loss in men at high altitude. J Appl Physiol 72 (5):1741-1748.

Canoui-Poitrine F, Veerabudun K, Larmignat P, Letournel M, Bastuji-Garin S, Richalet JP (2014) Risk prediction score for severe high altitude illness: a cohort study. PloS one 9 (7).

Capan LM, Bernstein DP, Patel KP, Sanger J, Turndorf H (1987) Measurement of ejection fraction by bioimpedance method. Critical Care Medicine 15 (4):402.

Carey M, Markham C, Gaffney P, Boran G, Maher V (2006) Validation of a point of care lipid analyser using a hospital based reference laboratory. Ir J Med Sci 175 (4):30-35.

Carreau A, Hafny-Rahbi BE, Matejuk A, Grillon C, Kieda C (2011) Why is the partial oxygen pressure of human tissues a crucial parameter? Small molecules and hypoxia. Journal of Cellular and Molecular Medicine 15 (6):1239-1253.

Carreras A, Kayali F, Zhang J, Hirotsu C, Wang Y, Gozal D (2012) Metabolic effects of intermittent hypoxia in mice: steady versus high-frequency applied hypoxia daily during the rest period. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 303 (7):15.

Cartee GD, Douen AG, Ramlal T, Klip A, Holloszy JO (1991) Stimulation of glucose transport in skeletal muscle by hypoxia. J Appl Physiol 70 (4):1593-1600.

Casey DP, Joyner MJ (2012) Compensatory vasodilatation during hypoxic exercise: mechanisms responsible for matching oxygen supply to demand. J Physiol 590 (Pt 24):6321-6326.

Caspers C, Cleveland S, Schipke JD (2011) Diving reflex: can the time course of heart rate reduction be quantified? Scand J Med Sci Sports 21 (1):18-31.

Castillo O, Woolcott OO, Gonzales E, Tello V, Tello L, Villarreal C, Mendez N, Damas L, Florentini E (2007) Residents at high altitude show a lower glucose profile than sea-level residents throughout 12-hour blood continuous monitoring. High altitude medicine & biology 8 (4):307-311.

Chapleau MW, Sabharwal R (2011) Methods of assessing vagus nerve activity and reflexes. Heart Fail Rev 16 (2):109-127.

Chapman RF, Emery M, Stager JM (1999) Degree of arterial desaturation in normoxia influences VO2max decline in mild hypoxia. Med Sci Sports Exerc 31 (5):658-663.

Chapman RF, Karlsen T, Resaland GK, Ge R-L, Harber MP, Witkowski S, Stray-Gundersen J, Levine BD (2014) Defining the “dose” of altitude training: how high to live for optimal sea level performance enhancement, vol 116. vol 6.

Charloux a, Lonsdorfer-Wolf E, Richard R, Lampert E, Oswald-Mammosser M, Mettauer B, Geny B, Lonsdorfer J (2000) A new impedance cardiograph device for the non-invasive evaluation of cardiac output at rest and during exercise: comparison with the "direct" Fick method. European journal of applied physiology 82:313-320.

Chen B, Lam KSL, Wang Y, Wu D, Lam MC, Shen J, Wong L, Hoo RLC, Zhang J, Xu A (2006) Hypoxia dysregulates the production of adiponectin and plasminogen activator inhibitor-1 independent of reactive oxygen species in adipocytes. Biochemical and biophysical research communications 341 (2):549-556.

Chen S-M, Lin H-Y, Kuo C-H (2013) Altitude Training Improves Glycemic Control. Chinese Journal of Physiology 56 (4):193-198.

Chen YC, Lee SD, Kuo CH, Ho LT (2011) The effects of altitude training on the AMPK-related glucose transport pathway in the red skeletal muscle of both lean and obese Zucker rats. High altitude medicine & biology 12 (4):371-378.

Cherouveim ED, Botonis PG, Koskolou MD, Geladas ND (2013) Effect of gender on maximal breath-hold time. Eur J Appl Physiol 113 (5):1321-1330.

Choate JK, Denton KM, Evans RG, Hodgson Y (2014) Using stimulation of the diving reflex in humans to teach integrative physiology. Adv Physiol Educ 38 (4):355-365.

Choi CS, Kim YB, Lee FN, Zabolotny JM, Kahn BB, Youn JH (2002) Lactate induces insulin resistance in skeletal muscle by suppressing glycolysis and impairing insulin signaling. American journal of physiology Endocrinology and metabolism 283 (2):E233-240.

Choi JH, Park MJ, Kim KW, Choi YH, Park SH, An WG, Yang US, Cheong J (2005) Molecular mechanism of hypoxia-mediated hepatic gluconeogenesis by transcriptional regulation. FEBS letters 579 (13):2795-2801.

Christopoulos A, Lew MJ (2000) Beyond eyeballing: fitting models to experimental data. Crit Rev Biochem Mol Biol 35 (5):359-391.

Cibella F, Cuttitta G, Kayser B, Narici M, Romano S, Saibene F (1996) Respiratory mechanics during exhaustive submaximal exercise at high altitude in healthy humans. J Physiol 494 (Pt 3):881-890.

Costalat G, Coquart J, Castres I, Tourny C, Lemaitre F (2013) Hemodynamic adjustments during breath-holding in trained divers. Eur J Appl Physiol 3:3.

Costalat G, Pichon A, Coquart J, Bauer F, Lemaître F (2014) Cardio-ventilatory responses to poikilocapnic hypoxia and hypercapnia in trained breath-hold divers. Respiratory physiology & neurobiology 192 (0):48-54.

Costalat G, Pichon A, Joulia F, Lemaitre F (2015) Modeling the diving bradycardia: Toward an "oxygen-conserving breaking point"? Eur J Appl Physiol 18:18.

Cotter G, Moshkovitz Y, Kaluski E, Cohen AJ, Miller H, Goor D, Vered Z (2004) Accurate, noninvasive continuous monitoring of cardiac output by whole-body electrical bioimpedance. CHEST Journal 125 (4):1431-1440.

Cour M, Argaud L (2010) Ischémie-reperfusion et protection cellulaire. Réanimation 19:185-190.

Craig AB, Jr. (1976) Summary of 58 cases of loss of consciousness during underwater swimming and diving. Med Sci Sports 8 (3):171-175.

Cross TJ, Kavanagh JJ, Breskovic T, Johnson BD, Dujic Z (2014) Dynamic Cerebral Autoregulation Is Acutely Impaired during Maximal Apnoea in Trained Divers. PloS one 9 (2):e87598.

Cross TJ, Kavanagh JJ, Breskovic T, Zubin Maslov P, Lojpur M, Johnson BD, Dujic Z (2013) The Effects of Involuntary Respiratory Contractions on Cerebral Blood Flow during Maximal Apnoea in Trained Divers. PloS one 8 (6).

Cui W, Kumar C, Chance B Experimental study of migration depth for the photons measured at sample surface. In, 1991 1991. International Society for Optics and Photonics, pp 180-191.

Dahan A, Nieuwenhuijs D, Teppema L (2007) Plasticity of central chemoreceptors: effect of bilateral carotid body resection on central CO2 sensitivity. PLoS medicine 4:e239.

Davis E, Huffman F, Onuoha E (2015) Is the LDL/HDL- Cholesterol Ratio a Better Risk Indicator for Coronary Heart Disease Than the TC/HDL-Cholesterol Ratio? The FASEB Journal 29 (1 Supplement).

Davis FM, Graves MP, Guy HJ, Prisk GK, Tanner TE (1987) Carbon dioxide response and breath-hold times in underwater hockey players. Undersea Biomed Res 14 (6):527-534.

Davis ML, Barstow TJ (2013) Estimated contribution of hemoglobin and myoglobin to near infrared spectroscopy. Respiratory physiology & neurobiology 186 (2):180-187.

de Bruijn R, Richardson M, Haughey H, Holmberg H-C, Björklund G, Schagatay E (2004) Hemoglobin levels in elite divers, elite skiers and untrained humans.

de Bruijn R, Richardson M, Schagatay E (2008) Increased erythropoietin concentration after repeated apneas in humans. Eur J Appl Physiol 102 (5):609-613.

de Bruijn R, Richardson M, Schagatay E (2009) Oxygen-conserving effect of the diving response in the immersed human. Diving Hyperb Med 39 (4):193-199.

de Burgh Daly M, Kirkman E, Wood LM (1988) Cardiovascular responses to stimulation of cardiac receptors in the cat and their modification by changes in respiration. J Physiol 407:349-362.

de Ruiter CJ, de Boer MD, Spanjaard M, de Haan A (2005) Knee angle-dependent oxygen consumption during isometric contractions of the knee extensors determined with near-infrared spectroscopy. J Appl Physiol 99 (2):579-586.

Debevec T, Simpson E, Macdonald I, Eiken O, Mekjavic I, Vinciguerra M (2014) Exercise Training during Normobaric Hypoxic Confinement Does Not Alter Hormonal appetite profile.

DeBose-Boyd RA (2008) Feedback regulation of cholesterol synthesis: sterol-accelerated ubiquitination and degradation of HMG CoA reductase. Cell Res 18 (6):609-621.

Decking UKM, Schlieper G, Kroll K, Schrader J (1997) Hypoxia-induced inhibition of adenosine kinase potentiates cardiac adenosine release. Circulation research 81 (2):154-164.

Deharo J-C, Guieu R, Mechulan A, Peyrouse E, Kipson N, Ruf J, Gerolami V, Devoto G, Marrè V, Brignole M (2013) Syncope Without Prodromes in Patients With Normal Heart and Normal Electrocardiogram: A Distinct Entity. Journal of the American College of Cardiology 62 (12):1075-1080.

Deharo J-C, Mechulan A, Giorgi R, Franceschi F, Prevot S, Peyrouse E, Condo J, By Y, Ruf J, Brignole M (2012) Adenosine plasma level and A2A adenosine receptor expression: correlation with laboratory tests in patients with neurally mediated syncope. Heart 98 (11):855-859.

Dejours PPRAJDM (1965) Concept and measurement of ventilatory sensitivity to carbon dioxide. Journal of Applied Physiology 20 (5):890-897.

Delahoche J, Delapille P, Lemaitre F, Verin E, Tourny-Chollet C (2005) Arterial oxygen saturation and heart rate variation during breath-holding: comparison between breath-hold divers and controls. Int J Sports Med 26 (3):177-181.

Delapille P, Verin E, Tourny-Chollet C (2001) Ventilatory responses to hypercapnia in divers and non-divers: effects of posture and immersion. European journal of:97-103.

Dempsey JA, Morgan BJ (2015) Humans In Hypoxia: A Conspiracy Of Maladaptation?! Physiology 30 (4):304-316.

Dempsey JA, Powell FL, Bisgard GE, Blain GM, Poulin MJ, Smith CA (2014) Role of chemoreception in cardiorespiratory acclimatization to, and deacclimatization from, hypoxia, vol 116. vol 7.

Dempsey JA, Smith CA (2014) Pathophysiology of human ventilatory control. The European respiratory journal : official journal of the European Society for Clinical Respiratory Physiology 12:erj00485-02014.

Dennedy M, Vidal-Puig A (2014) Review Article: An Adipocentric View of the Metabolic Syndrome and Cardiovascular Disease. Curr Cardiovasc Risk Rep 8 (3):1-9.

Drager LF, Jun JC, Polotsky VY (2010) Metabolic consequences of intermittent hypoxia: Relevance to obstructive sleep apnea. Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism 24 (5):843-851.

Duennwald T, Gatterer H, Groop P-H, Burtscher M, Bernardi L (2013) Effects of a Single Bout of Interval Hypoxia on Cardiorespiratory Control and Blood Glucose in Patients With Type 2 Diabetes. Diabetes Care 36 (8):2183-2189.

Duffin J (2011) Measuring the respiratory chemoreflexes in humans. Respir Physiol Neurobiol 177 (2):71-79.

Duffin J, Mohan RM, Vasiliou P, Stephenson R, Mahamed S (2000) A model of the chemoreflex control of breathing in humans: model parameters measurement. Respir Physiol 120 (1):13-26.

Dufour SP, Ponsot E, Zoll J, Doutreleau S, Lonsdorfer-Wolf E, Geny B, Lampert E, Fluck M, Hoppeler H, Billat V, Mettauer B, Richard R, Lonsdorfer J (2006) Exercise training in normobaric hypoxia in endurance runners. I. Improvement in aerobic performance capacity. J Appl Physiol 100 (4):1238-1248.

Dujic Z, Breskovic T, Ljubkovic M (2011) Breath hold diving: in vivo model of the brain survival response in man? Med Hypotheses 76 (5):737-740.

Dujic Z, Ivancev V, Heusser K, Dzamonja G, Palada I, Valic Z, Tank J, Obad A, Bakovic D, Diedrich A, Joyner MJ, Jordan J (2008) Central chemoreflex sensitivity and sympathetic neural outflow in elite breath-hold divers. Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985) 104:205-211.

Dujic Z, Uglesic L, Breskovic T, Valic Z, Heusser K, Marinovic J, Ljubkovic M, Palada I (2009) Involuntary breathing movements improve cerebral oxygenation during apnea struggle phase in elite divers. J Appl Physiol 107 (6):1840-1846.

Dupic L, Huet O, Harrois A, Duranteau J (2010) Hypoxie et fonction mitochondriale. Réanimation 19 (5):399-405.

Dutschmann M, Herbert H (1996) The Kolliker-Fuse nucleus mediates the trigeminally induced apnoea in the rat. Neuroreport 7 (8):1432-1436.

Dwinell MR, Powell FL (1999) Chronic hypoxia enhances the phrenic nerve response to arterial chemoreceptor stimulation in anesthetized rats. J Appl Physiol 87 (2):817-823.

Edén E, Edström S, Bennegård K, Scherstén T, Lundholm K (1984) Glucose flux in relation to energy expenditure in malnourished patients with and without cancer during periods of fasting and feeding. Cancer Research 44 (4):1718-1724.

Eichhorn L, Erdfelder F, Kessler F, Doerner J, Thudium MO, Meyer R, Ellerkmann RK (2015) Evaluation of near-infrared spectroscopy under apnea-dependent hypoxia in humans. J Clin Monit Comput 4:4.

Emanuela F, Grazia M, Marco de R, Maria Paola L, Giorgio F, Marco B (2012) Inflammation as a Link between Obesity and Metabolic Syndrome. J Nutr Metab 476380 (10):1.

Emerling BM, Weinberg F, Snyder C, Burgess Z, Mutlu GM, Viollet B, Budinger GR, Chandel NS (2009) Hypoxic activation of AMPK is dependent on mitochondrial ROS but independent of an increase in AMP/ATP ratio. Free Radic Biol Med 46 (10):1386-1391.

Engan H, Richardson MX, Lodin-Sundström A, van Beekvelt M, Schagatay E (2013) Effects of two weeks of daily apnea training on diving response, spleen contraction, and

erythropoiesis in novel subjects. Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports 23 (3):340-348.

Espersen KFHLTKI-LCNJ (2002) The human spleen as an erythrocyte reservoir in diving-related interventions. Journal of Applied Physiology 92 (5):2071-2079.

Fagoni N, Sivieri A, Antonutto G, Moia C, Taboni A, Bringard A, Ferretti G (2015) Cardiovascular responses to dry resting apnoeas in elite divers while breathing pure oxygen. Respiratory physiology & neurobiology 219:1-8.

Feiner JR, Bickler PE, Severinghaus JW (1995) Hypoxic ventilatory response predicts the extent of maximal breath-holds in man. Respir Physiol 100 (3):213-222.

Ferrari M, Muthalib M, Quaresima V (2011) The use of near-infrared spectroscopy in understanding skeletal muscle physiology: recent developments. Philosophical transactions Series A, Mathematical, physical, and engineering sciences 369 (1955):4577-4590.

Ferreira LF, Koga S, Barstow TJ (2007) Dynamics of noninvasively estimated microvascular O2 extraction during ramp exercise. J Appl Physiol 103 (6):1999-2004.

Ferretti G (2001) Extreme human breath-hold diving. European Journal of Applied Physiology 84:254-271.

Ferretti G, Costa M (2003) Diversity in and adaptation to breath-hold diving in humans. Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology 136 (1):205-213.

Ferretti G, Costa M, Ferrigno M, Grassi B, Marconi C, Lundgren CE, Cerretelli P (1991) Alveolar gas composition and exchange during deep breath-hold diving and dry breath holds in elite divers. J Appl Physiol 70 (2):794-802.

Ferrigno M, Hickey DD, Liner MH, Lundgren CE (1986) Cardiac performance in humans during breath holding. J Appl Physiol 60 (6):1871-1877.

Fidalgo S, Ivanov DK, Wood SH (2013) Serotonin: from top to bottom. Biogerontology 14 (1):21-45.

Figueiredo Filho DB, Silva Júnior JA, Rocha EC (2011) What is R2 all about? 2011, vol 3.

Fisher JS, Gao J, Han DH, Holloszy JO, Nolte LA (2002) Activation of AMP kinase enhances sensitivity of muscle glucose transport to insulin. American journal of physiology Endocrinology and metabolism 282 (1):E18-23.

Flamm SD, Taki J, Moore R, Lewis SF, Keech F, Maltais F, Ahmad M, Callahan R, Dragotakes S, Alpert N, et al. (1990) Redistribution of regional and organ blood volume and effect on cardiac function in relation to upright exercise intensity in healthy human subjects. Circulation 81 (5):1550-1559.

Fleischmann E, Kurz A, Niedermayr M, Schebesta K, Kimberger O, Sessler DI, Kabon B, Prager G (2005) Tissue oxygenation in obese and non-obese patients during laparoscopy. Obes Surg 15 (6):813-819.

Foster GE, McKenzie DC, Milsom WK, Sheel AW (2005) Effects of two protocols of intermittent hypoxia on human ventilatory, cardiovascular and cerebral responses to hypoxia. J Physiol 567 (Pt 2):689-699.

Foster GE, Sheel AW (2005) The human diving response, its function, and its control. Scand J Med Sci Sports 15 (1):3-12.

Fredholm BB, AP IJ, Jacobson KA, Linden J, Muller CE (2011) International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXXI. Nomenclature and classification of adenosine receptors--an update. Pharmacol Rev 63 (1):1-34.

Fredholm BB, Ijzerman AP, Jacobson KA, Klotz K-N, Linden J (2001) International Union of Pharmacology. XXV. Nomenclature and classification of adenosine receptors. Pharmacological reviews 53 (4):527-552.

Freilich A, Tepper D (1992) Adenosine and its cardiovascular effects. American Heart Journal 123 (5):1324-1328.

Fujii N, Jessen N, Goodyear LJ (2006) AMP-activated protein kinase and the regulation of glucose transport. American journal of physiology Endocrinology and metabolism 291 (5):5.

Fulco CS, Beidleman BA, Muza SR (2013) Effectiveness of preacclimatization strategies for high-altitude exposure. Exerc Sport Sci Rev 41 (1):55-63.

Fulco CS, Rock PB, Cymerman A (1998) Maximal and submaximal exercise performance at altitude. Aviat Space Environ Med 69 (8):793-801.

Furedy JJ, Morrison JW, Heslegrave RJ, Arabian JM (1983) Effects of water temperature on some noninvasively measured components of the human dive reflex: an experimental response-topography analysis. Psychophysiology 20 (5):569-578.

Garcia N, Hopkins SR, Powell FL (2000) Effects of intermittent hypoxia on the isocapnic hypoxic ventilatory response and erythropoiesis in humans. Respir Physiol 123 (1-2):39-49.

Gardiner CF, Hoagland HW (1905) Human blood pressure and pulse as affected by altitude. Transactions of the American Climatological Association 21:80-89.

Gargaud M (2003) Les traces du vivant. L'Origine de la vie sur terre et dans l'univers. Presses universitaires de Bordeaux.

Girard O, Amann M, Aughey R, Billaut F, Bishop DJ, Bourdon P, Buchheit M, Chapman R, D'Hooghe M, Garvican-Lewis LA, Gore CJ, Millet GP, Roach GD, Sargent C, Saunders PU, Schmidt W, Schumacher YO (2013) Position statement—altitude training for improving team-sport players' performance: current knowledge and unresolved issues. British Journal of Sports Medicine 47 (Suppl 1):i8-i16.

Goksor E, Rosengren L, Wennergren G (2002) Bradycardic response during submersion in infant swimming. Acta Paediatr 91 (3):307-312.

Goldberger AL, Amaral LA, Hausdorff JM, Ivanov P, Peng CK, Stanley HE (2002) Fractal dynamics in physiology: alterations with disease and aging. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 1:2466-2472.

Goldberger JJ, Challapalli S, Tung R, Parker MA, Kadish AH (2001) Relationship of heart rate variability to parasympathetic effect. Circulation 103 (15):1977-1983.

Goldberger JJ, Le FK, Lahiri M, Kannankeril PJ, Ng J, Kadish AH (2006) Assessment of parasympathetic reactivation after exercise. Am J Physiol Heart Circ Physiol 290 (6):13.

Goldschlager N, Epstein AE, Grubb BP, Olshansky B, Prystowsky E, Roberts WC, Scheinman MM (2003) Etiologic considerations in the patient with syncope and an apparently normal heart. Arch Intern Med 163 (2):151-162.

Goldstein DS, Bentho O, Park M-Y, Sharabi Y (2011) Low-frequency power of heart rate variability is not a measure of cardiac sympathetic tone but may be a measure of modulation of cardiac autonomic outflows by baroreflexes. Experimental physiology 96 (12):1255-1261.

Gollnick PD, Bayly WM, Hodgson DR (1986) Exercise intensity, training, diet, and lactate concentration in muscle and blood. Medicine and science in sports and exercise 18 (3):334-340.

Gonzales GF (1980) Blood levels of 5-hydroxytryptamine in human beings under several physiological situations. Life Sciences 27 (8):647-650.

Gonzalez C, Almaraz L, Obeso A, Rigual R (1994) Carotid body chemoreceptors: from natural stimuli to sensory discharges. Physiol Rev 74 (4):829-898.

González C, Almaraz L, Obeso A, Rigual R (1992) Oxygen and acid chemoreception in the carotid body chemoreceptors. Trends in Neurosciences 15 (4):146-153.

Gooden BA (1994) Mechanism of the human diving response. Integr Physiol Behav Sci 29 (1):6-16.

Goodwin GM, McCloskey DI, Mitchell JH (1972) Cardiovascular and respiratory responses to changes in central command during isometric exercise at constant muscle tension. The Journal of Physiology 226 (1):173-190.

Goto K (2013) Metabolic and endocrine responses to hypoxic exposure. The Journal of Physical Fitness and Sports Medicine 2 (2):215-220.

Gradwell DP (2006) Hypoxia and hyperventilation. Ernsting's aviation medicine 4th ed London: Hodder Arnold:41-56.

Grassi B, Ferretti G, Costa M, Ferrigno M, Panzacchi A, Lundgren CE, Marconi C, Cerretelli P (1994) Ventilatory responses to hypercapnia and hypoxia in elite breath-hold divers. Respir Physiol 97 (3):323-332.

Grassi B, Pogliaghi S, Rampichini S, Quaresima V, Ferrari M, Marconi C, Cerretelli P (2003) Muscle oxygenation and pulmonary gas exchange kinetics during cycling exercise on-transitions in humans. J Appl Physiol 95 (1):149-158.

Greie S, Humpeler E, Gunga HC, Koralewski E, Klingler A, Mittermayr M, Fries D, Lechleitner M, Hoertnagl H, Hoffmann G, Strauss-Blasche G, Schobersberger W (2006) Improvement of metabolic syndrome markers through altitude specific hiking vacations. J Endocrinol Invest 29 (6):497-504.

Grenz A, Homann D, Eltzschig HK (2011) Extracellular adenosine: a safety signal that dampens hypoxia-induced inflammation during ischemia. Antioxidants & redox signaling 15 (8):2221-2234.

Grossman P, Taylor EW (2007) Toward understanding respiratory sinus arrhythmia: Relations to cardiac vagal tone, evolution and biobehavioral functions. Biological Psychology 74 (2):263-285.

Guaraldi P, Serra M, Barletta G, Pierangeli G, Terlizzi R, Calandra-Buonaura G, Cialoni D, Cortelli P (2009) Cardiovascular changes during maximal breath-holding in elite divers. Clin Auton Res 19 (6):363-366.

Guensch DP, Fischer K, Flewitt JA, Yu J, Lukic R, Friedrich JA, Friedrich MG (2013) Breathing manoeuvre-dependent changes in myocardial oxygenation in healthy humans. European Heart Journal-Cardiovascular Imaging 15 (4):409-414.

Guerre-Millo M (2008) Adiponectin: An update. Diabetes & Metabolism 34 (1):12-18.

Guieu R, Sampieri F, Bechis G, Halimi G, Dussol B, Berland Y, Sampol J, Rochat H (1999) Development of an HPLC/diode array detector method for the determination of human plasma adenosine concentrations. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies 22 (12):1829-1841.

Hackett PH, Roach RC (2001) High-Altitude Illness. New England Journal of Medicine 345 (2):107-114.

Hainsworth R (2004) Pathophysiology of syncope. Clin Auton Res 1:18-24.

Halford JC, Harrold JA (2012) 5-HT(2C) receptor agonists and the control of appetite. Handb Exp Pharmacol 209:349-356.

Hamad N, Travis SP (2006) Weight loss at high altitude: pathophysiology and practical implications. European journal of gastroenterology & hepatology 18 (1):5-10.

Hamaoka T (2013) Muscle oxygenation monitoring using near-infrared spectroscopy. The Journal of Physical Fitness and Sports Medicine 2 (2):203-207.

Han F, Strohl KP (2000) Inheritance of ventilatory behavior in rodent models. Respiration physiology 121 (2–3):247-256.

Hanada A, Sander M, Gonzalez-Alonso J (2003) Human skeletal muscle sympathetic nerve activity, heart rate and limb haemodynamics with reduced blood oxygenation and exercise. J Physiol 551 (Pt 2):635-647.

Hawley J, Noakes T (1992) Peak power output predicts maximal oxygen uptake and performance time in trained cyclists. Europ J Appl Physiol 65 (1):79-83.

Hayes HB, Jayaraman A, Herrmann M, Mitchell GS, Rymer WZ, Trumbower RD (2014) Daily intermittent hypoxia enhances walking after chronic spinal cord injury: a randomized trial. Neurology 82 (2):104-113.

Headrick JP, Ashton KJ, Rose'Meyer RB, Peart JN (2013) Cardiovascular adenosine receptors: Expression, actions and interactions. Pharmacology & therapeutics 140 (1):92-111.

Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology (1996). Circulation 93 (5):1043-1065.

Heathers JAJ (2014) Everything Hertz: methodological issues in short-term frequency-domain HRV. Frontiers in Physiology 5.

Heistad DD, Abboud FM, Mark AL, Schmid PG (1975) Effect of hypoxemia on responses to norepinephrine and angiotensin in coronary and muscular vessels. The Journal of pharmacology and experimental therapeutics 193 (3):941-950.

Helmlinger G, Yuan F, Dellian M, Jain RK (1997) Interstitial pH and pO2 gradients in solid tumors in vivo: high-resolution measurements reveal a lack of correlation. Nat Med 3 (2):177-182.

Hentsch U, Ulmer HV (1984) Trainability of underwater breath-holding time. Int J Sports Med 5 (6):343-347.

Heusser K, Dzamonja G, Tank J, Palada I, Valic Z, Bakovic D, Obad A, Ivancev V, Breskovic T, Diedrich A, Joyner MJ, Luft FC, Jordan J, Dujic Z (2009) Cardiovascular regulation during apnea in elite divers. Hypertension 53 (4):719-724.

Hodson L (2013) Adipose tissue oxygenation. Adipocyte 3 (1):75-80.

Hosogai N, Fukuhara A, Oshima K, Miyata Y, Tanaka S, Segawa K, Furukawa S, Tochino Y, Komuro R, Matsuda M, Shimomura I (2007) Adipose Tissue Hypoxia in Obesity and Its Impact on Adipocytokine Dysregulation. Diabetes 56 (4):901-911.

Iellamo F (2001) Neural mechanisms of cardiovascular regulation during exercise. Autonomic Neuroscience 90 (1–2):66-75.

Irving LSPFGSW (1942) The regulation of arterial blood pressure in the seal during diving. American Journal of Physiology -- Legacy Content 135 (3):557-566.

Ivancev V, Palada I, Valic Z, Obad A, Bakovic D, Dietz NM, Joyner MJ, Dujic Z (2007) Cerebrovascular reactivity to hypercapnia is unimpaired in breath-hold divers. J Physiol 582 (Pt 2):723-730.

Ivashkevich AA, Serebrovskaya TV (2000) Scientific activities of Academician Nikolai Sirotinin. High altitude medicine & biology 1 (1):75-80.

Jansson PA, Larsson A, Smith U, Lönnroth P (1992) Glycerol production in subcutaneous adipose tissue in lean and obese humans. Journal of Clinical Investigation 89 (5):1610-1617.

Jay O, Christensen JP, White MD (2007) Human face-only immersion in cold water reduces maximal apnoeic times and stimulates ventilation. Exp Physiol 92 (1):197-206.

Jensen D, Mask G, Tschakovsky ME (2010) Variability of the ventilatory response to Duffin's modified hyperoxic and hypoxic rebreathing procedure in healthy awake humans. Respir Physiol Neurobiol 170 (2):185-197.

Jensen FB (2004) Red blood cell pH, the Bohr effect, and other oxygenation-linked phenomena in blood O2 and CO2 transport. Acta physiologica Scandinavica 182 (3):215-227.

Joulia F, Coulange M, Desplantes A, Barberon B, Kipson N, Gerolami V, Jammes Y, Kerbaul F, Née L, Fromonot J, Bruzzese L, Michelet P, Boussuges A, Brignole M, Deharo J-C, Guieu R (2014) Purinergic profile of fainting divers is different from patients with vasovagal syncope. International journal of cardiology 174 (3):741-743.

Joulia F, Coulange M, Lemaitre F, Costalat G, Franceschi F, Gariboldi V, Nee L, Fromonot J, Bruzzese L, Gravier G, Kipson N, Jammes Y, Boussuges A, Brignole M, Deharo JC, Guieu R (2013) Plasma adenosine release is associated with bradycardia and transient loss of consciousness during experimental breath-hold diving. Int J Cardiol. 2013 Oct 12;168(5):e138-41.

Joulia F, Lemaitre F, Fontanari P, Mille ML, Barthelemy P (2009) Circulatory effects of apnoea in elite breath-hold divers. Acta Physiol 197 (1):75-82.

Kabon B, Nagele A, Reddy D, Eagon C, Fleshman JW, Sessler DI, Kurz A (2004) Obesity Decreases Perioperative Tissue Oxygenation. Anesthesiology 100 (2):274-280.

Kannurpatti SS, Biswal BB, Hudetz AG (2002) Differential fMRI-BOLD signal response to apnea in humans and anesthetized rats. Magnetic resonance in medicine 47 (5):864-870.

Karash YM, Strelkov RB, Chizhov AY (1988) [Normobaric hypoxia in treatment, prophylaxis and rehabilitation]. Meditsina:352.

Karinen HM, Peltonen JE, Kahonen M, Tikkanen HO (2010) Prediction of acute mountain sickness by monitoring arterial oxygen saturation during ascent. High altitude medicine & biology 11 (4):325-332.

Karpe F, Fielding BA, Ilic V, Macdonald IA, Summers LK, Frayn KN (2002) Impaired postprandial adipose tissue blood flow response is related to aspects of insulin sensitivity. Diabetes 51 (8):2467-2473.

Katayama K, Fujita H, Sato K, Ishida K, Iwasaki K, Miyamura M (2005a) Effect of a repeated series of intermittent hypoxic exposures on ventilatory response in humans. High altitude medicine & biology 6 (1):50-59.

Katayama K, Ishida K, Iwasaki K, Miyamura M (2009) Effect of two durations of short-term intermittent hypoxia on ventilatory chemosensitivity in humans. Eur J Appl Physiol 105 (5):815-821.

Katayama K, Sato K, Hotta N, Ishida K, Iwasaki K, Miyamura M (2007) Intermittent hypoxia does not increase exercise ventilation at simulated moderate altitude. Int J Sports Med 28 (6):480-487.

Katayama K, Sato K, Matsuo H, Hotta N, Sun Z, Ishida K, Iwasaki K-i, Miyamura M (2005b) Changes in ventilatory responses to hypercapnia and hypoxia after intermittent hypoxia in humans. Respiratory physiology & neurobiology 146 (1):55-65.

Katayama K, Sato Y, Ishida K, Mori S, Miyamura M (1998) The effects of intermittent exposure to hypoxia during endurance exercise training on the ventilatory responses to hypoxia and hypercapnia in humans. Eur J Appl Physiol Occup Physiol 78 (3):189-194.

Katayama K, Sato Y, Morotome Y, Shima N, Ishida K, Mori S, Miyamura M (2001a) Intermittent hypoxia increases ventilation and Sa(O2) during hypoxic exercise and hypoxic chemosensitivity. J Appl Physiol 90 (4):1431-1440.

Katayama K, Shima N, Sato Y, Qiu JC, Ishida K, Mori S, Miyamura M (2001b) Effect of intermittent hypoxia on cardiovascular adaptations and response to progressive hypoxia in humans. High altitude medicine & biology 2 (4):501-508.

Kaufmann T, Sutterlin S, Schulz SM, Vogele C (2011) ARTiiFACT: a tool for heart rate artifact processing and heart rate variability analysis. Behav Res Methods 43 (4):1161-1170.

Kawaguchi K, Hayashi Y, Sekikawa K, Tabusadani M, Inamizu T, Onari K, Bhambhani Y (2006) Vastus lateralis oxygenation during prolonged cycling in healthy males. Appl Physiol Nutr Metab 31 (1):48-55.

Kawakami Y, Natelson BH, DuBois AR (1967) Cardiovascular effects of face immersion and factors affecting diving reflex in man. Journal of Applied Physiology 23 (6):964-970.

Kayser B, Verges S (2013) Hypoxia, energy balance and obesity: from pathophysiological mechanisms to new treatment strategies. Obesity Reviews 14 (7):579-592.

Kellogg RH, Pace N, Archibald ER, Vaughan BE (1957) Respiratory response to inspired CO2 during acclimatization to an altitude of 12, 470 feet. J Appl Physiol 11 (1):65-71.

Kelly KR, Williamson DL, Fealy CE, Kriz DA, Krishnan RK, Huang H, Ahn J, Loomis JL, Kirwan JP (2010) Acute altitude-induced hypoxia suppresses plasma glucose and leptin in healthy humans. Metabolism: clinical and experimental 59 (2):200-205.

Kemps HMC, Thijssen EJM, Schep G, Sleutjes BTHM, De Vries WR, Hoogeveen AR, Wijn PFF, Doevendans PaFM (2008) Evaluation of two methods for continuous cardiac output assessment during exercise in chronic heart failure patients. Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985) 105:1822-1829.

Khurana R (2007) Cold face test: adrenergic phase. Clinical Autonomic Research 17 (4):211-216.

Khurana RK, Watabiki S, Hebel JR, Toro R, Nelson E (1980) Cold face test in the assessment of trigeminal-brainstem- vagal function in humans. Annals of Neurology 7 (2):144-149.

Khurana RK, Wu R (2006) The cold face test: a non-baroreflex mediated test of cardiac vagal function. Clin Auton Res 16 (3):202-207.

Kim KK, Baek HJ, Lim YG, Park KS (2012) Effect of missing RR-interval data on nonlinear heart rate variability analysis. Computer methods and programs in biomedicine 106 (3):210-218.

King AE, Ackley MA, Cass CE, Young JD, Baldwin SA (2006) Nucleoside transporters: from scavengers to novel therapeutic targets. Trends in Pharmacological Sciences 27 (8):416-425.

Kiviniemi AM, Breskovic T, Uglesic L, Kuch B, Maslov PZ, Sieber A, Seppanen T, Tulppo MP, Dujic Z (2012) Heart rate variability during static and dynamic breath-hold dives in elite divers. Auton Neurosci 169 (2):95-101.

Kjeld T, Jattu T, Nielsen HB, Goetze JP, Secher NH, Olsen NV (2014) Release of erythropoietin and neuron-specific enolase after breath holding in competing free divers. Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports:n/a-n/a.

Kjeld T, Pott FC, Secher NH (2009) Facial immersion in cold water enhances cerebral blood velocity during breath-hold exercise in humans. J Appl Physiol 106 (4):1243-1248.

Klabunde RE (1983) Dipyridamole inhibition of adenosine metabolism in human blood. European journal of pharmacology 93 (1-2):21-26.

Koehle M, Sheel W, Milsom W, McKenzie D (2008) The effect of two different intermittent hypoxia protocols on ventilatory responses to hypoxia and carbon dioxide at rest. Advances in experimental medicine and biology 605:218-223.

Koehle MS, Sheel AW, Milsom WK, McKenzie DC (2007) Two patterns of daily hypoxic exposure and their effects on measures of chemosensitivity in humans. J Appl Physiol 103 (6):1973-1978.

Kong Z, Zang Y, Hu Y (2013) Normobaric hypoxia training causes more weight loss than normoxia training after a 4-week residential camp for obese young adults. Sleep and Breathing:1-7.

Kubicek W, Karnegis J, Patterson R, Witsoe D, Mattson R (1966) Development and evaluation of an impedance cardiac output system. Aerospace Medicine 37 (12):1208-1212.

Lador F, Tam E, Adami A, Kenfack MA, Bringard A, Cautero M, Moia C, Morel DR, Capelli C, Ferretti G (2013) Cardiac output, O2 delivery and [Formula: see text] kinetics during step exercise in acute normobaric hypoxia. Respir Physiol Neurobiol 186 (2):206-213.

Lahiri S, Mokashi A, Delaney RG, Fishman AP (1978) Arterial PO2 and PCO2 stimulus threshold for carotid chemoreceptors and breathing. Respiration physiology 34 (3):359-375.

Laub M, Hvid-Jacobsen K, Hovind P, Kanstrup IL, Christensen NJ, Nielsen SL (1985) Spleen emptying and venous hematocrit in humans during exercise. J Appl Physiol 74 (3):1024-1026.

Laurino M, Menicucci D, Mastorci F, Allegrini P, Piarulli A, Scilingo EP, Bedini R, Pingitore A, Passera M, L'Abbate A, Gemignani A (2012) Mind-body relationships in elite apnea divers during breath holding: a study of autonomic responses to acute hypoxemia. Frontiers in neuroengineering 5 (4):00004.

Lavie L (2014) Oxidative stress in obstructive sleep apnea and intermittent hypoxia – Revisited – The bad ugly and good: Implications to the heart and brain. Sleep medicine reviews (0).

Lavie L, Lavie P (2009) Molecular mechanisms of cardiovascular disease in OSAHS: the oxidative stress link. The European respiratory journal : official journal of the European Society for Clinical Respiratory Physiology 33 (6):1467-1484.

Layland J, Carrick D, Lee M, Oldroyd K, Berry C (2014) AdenosinePhysiology, Pharmacology, and Clinical Applications. JACC: Cardiovascular Interventions 7 (6):581-591.

Le Lay S, Simard G, Martinez MC, Andriantsitohaina R (2014) Oxidative Stress and Metabolic Pathologies: From an Adipocentric Point of View. Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2014.

Lecoultre V, Peterson CM, Covington JD, Ebenezer PJ, Frost EA, Schwarz JM, Ravussin E (2014) Ten nights of moderate hypoxia improves insulin sensitivity in obese humans. Diabetes Care. 2013 Dec;36(12):e197-8.

Lee WC, Chen JJ, Ho HY, Hou CW, Liang MP, Shen YW, Kuo CH (2003) Short-term altitude mountain living improves glycemic control. High altitude medicine & biology 4 (1):81-91.

Lehmann EL (1990) Model Specification: The Views of Fisher and Neyman, and Later Developments. Statistical Science 5 (2):160-168.

Lemaitre F, Bernier F, Petit I, Renard N, Gardette B, Joulia F (2005) Heart rate responses during a breath-holding competition in well-trained divers. International journal of sports medicine 26 (6):409-413.

Lemaître F, Buchheit M, Joulia F, Fontanari P, Tourny-Chollet C (2008) Static Apnea Effect on Heart Rate and Its Variability in Elite Breath-Hold Divers. Aviation, Space, and Environmental Medicine 79 (2):99-104.

Lemaitre F, Lafay V, Taylor M, Costalat G, Gardette B (2013) Electrocardiographic aspects of deep dives in elite breath-hold divers. Undersea Hyperb Med 40 (2):145-154.

Ley S, Fink C, Puderbach M, Zaporozhan J, Plathow C, Eichinger M, Hosch W, Kreitner K-F, Kauczor H-U (2006) MRI Measurement of the Hemodynamics of the Pulmonary and Systemic Arterial Circulation: Influence of Breathing Maneuvers. American Journal of Roentgenology 187 (2):439-444.

Lhuissier FJ, Brumm M, Ramier D, Richalet JP (2012) Ventilatory and cardiac responses to hypoxia at submaximal exercise are independent of altitude and exercise intensity. J Appl Physiol 112 (4):566-570.

Lin YC, Lally DA, Moore TO, Hong SK (1974) Physiological and conventional breath-hold breaking points. J Appl Physiol 37 (3):291-296.

Lindholm P (2007) Loss of motor control and/or loss of consciousness during breath-hold competitions. Int J Sports Med 28 (4):295-299.

Lindholm P, Blogg SL, Gennser M (2007) Pulse oximetry to detect hypoxemia during apnea: comparison of finger and ear probes. Aviat Space Environ Med 78 (8):770-773.

Lindholm P, Lundgren CE (2006) Alveolar gas composition before and after maximal breath-holds in competitive divers. Undersea Hyperb Med 33 (6):463-467.

Lindholm P, Lundgren CE (2009) The physiology and pathophysiology of human breath-hold diving. J Appl Physiol 106 (1):284-292.

Lindholm P, Nordh J, Linnarsson D (2002) Role of hypoxemia for the cardiovascular responses to apnea during exercise. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 283 (5):R1227-1235.

Lindholm P, Sundblad P, Linnarsson D (1999) Oxygen-conserving effects of apnea in exercising men. J Appl Physiol 87 (6):2122-2127.

Linér MH, Andersson J (2009) Hypoxic syncope in a competitive breath-hold diver with elevation of the brain damage marker S100B. Aviation, Space, and Environmental Medicine 80 (12):1066-1068.

Liner MH, Linnarsson D (1994) Tissue oxygen and carbon dioxide stores and breath-hold diving in humans. J Appl Physiol 77 (2):542-547.

Ling Q, Sailan W, Ran J, Zhi S, Cen L, Yang X, Xiaoqun Q (2008) The effect of intermittent hypoxia on bodyweight, serum glucose and cholesterol in obesity mice. Pak J Biol Sci 11 (6):869-875.

Lippl FJ, Neubauer S, Schipfer S, Lichter N, Tufman A, Otto B, Fischer R (2010) Hypobaric Hypoxia Causes Body Weight Reduction in Obese Subjects. Obesity 18 (4):675-681.

Lippman N, Stein KM, Lerman BB (1994) Comparison of methods for removal of ectopy in measurement of heart rate variability. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology 267 (1):H411-H418.

Liu C, Wu J, Zhu J, Kuei C, Yu J, Shelton J, Sutton SW, Li X, Yun SJ, Mirzadegan T, Mazur C, Kamme F, Lovenberg TW (2009) Lactate inhibits lipolysis in fat cells through

activation of an orphan G-protein-coupled receptor, GPR81. J Biol Chem 284 (5):2811-2822.

Lloyd HG, Fredholm BB (1995) Involvement of adenosine deaminase and adenosine kinase in regulating extracellular adenosine concentration in rat hippocampal slices. Neurochem Int 26 (4):387-395.

Lodin-Sundström A, Schagatay E (2010) Spleen Contraction During 20 min Normobaric Hypoxia and 2 min Apnea in Humans. Aviation, Space, and Environmental Medicine 81 (6):545-549.

López-Barneo J, Ortega-Sáenz P, Pardal R, Pascual A, Piruat JI (2008) Carotid body oxygen sensing. European Respiratory Journal 32 (5):1386-1398.

Louis M, Punjabi NM (2009) Effects of acute intermittent hypoxia on glucose metabolism in awake healthy volunteers. Journal of Applied Physiology 106 (5):1538-1544.

Lusina SJ, Kennedy PM, Inglis JT, McKenzie DC, Ayas NT, Sheel AW (2006) Long-term intermittent hypoxia increases sympathetic activity and chemosensitivity during acute hypoxia in humans. J Physiol 575 (Pt 3):961-970.

Lyamina NP, Lyamina SV, Senchiknin VN, Mallet RT, Downey HF, Manukhina EB (2011) Normobaric hypoxia conditioning reduces blood pressure and normalizes nitric oxide synthesis in patients with arterial hypertension. Journal of hypertension 29 (11):2265-2272.

Mackenzie R, Maxwell N, Castle P, Brickley G, Watt P (2011) Acute hypoxia and exercise improve insulin sensitivity (SI2*) in individuals with type 2 diabetes. Diabetes/Metabolism Research and Reviews 27 (1):94-101.

Mackenzie R, Maxwell N, Castle P, Elliott B, Brickley G, Watt P (2012) Intermittent Exercise with and without Hypoxia Improves Insulin Sensitivity in Individuals with Type 2 Diabetes. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 97 (4):E546-E555.

MacLean PS, Zheng D, Jones JP, Olson AL, Dohm GL (2002) Exercise-induced transcription of the muscle glucose transporter (GLUT 4) gene. Biochem Biophys Res Commun 292 (2):409-414.

Marabotti C, Belardinelli a, L'Abbate a, Scalzini a, Chiesa F, Cialoni D, Passera M, Bedini R (2008) Cardiac function during breath-hold diving in humans: an echocardiographic study. Undersea & hyperbaric medicine : journal of the Undersea and Hyperbaric Medical Society, Inc 35:83-90.

Marabotti C, Scalzini A, Cialoni D, Passera M, L'Abbate A, Bedini R (2009) Cardiac changes induced by immersion and breath-hold diving in humans. Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985) 106:293-297.

Marin P, Rebuffe-Scrive M, Smith U, Bjorntorp P (1987) Glucose uptake in human adipose tissue. Metabolism: clinical and experimental 36 (12):1154-1160.

Marquardt D (1963) An Algorithm for Least-Squares Estimation of Nonlinear Parameters. SIAM Journal on Applied Mathematics 11 (2):431-441.

Marsh N, Askew D, Beer K, Gerke M, Muller D, Reichman C (1995) Relative contributions of voluntary apnoea, exposure to cold and face immersion in water to diving bradycardia in humans. Clinical and experimental pharmacology & physiology 22 (11):886-887.

Maslov LN, Lishmanov YB, Kolar F, Portnichenko AG, Podoksenov YK, Khaliulin IG, Wang H, Pei JM (2012) Hypoxic Preconditioning – a Phenomenon Increasing the Tolerance of Cardiomyocytes to Hypoxia/Reoxygenation. Neurosci Behav Physi 42 (4):380-391.

Masuda Y, Yoshida A, Hayashi F, Sasaki K, Honda Y (1981) The ventilatory responses to hypoxia and hypercapnia in the Ama. Jpn J Physiol 31 (2):187-197.

Masuda Y, Yoshida A, Hayashi F, Sasaki K, Honda Y (1982) Attenuated ventilatory responses to hypercapnia and hypoxia in assisted breath-hold drivers (Funado). Jpn J Physiol 32 (3):327-336.

Matcher SJ, Elwell CE, Cooper CE, Cope M, Delpy DT (1995) Performance comparison of several published tissue near-infrared spectroscopy algorithms. Anal Biochem 227 (1):54-68.

Mateika JH, El-Chami M, Shaheen D, Ivers B (2015) Intermittent hypoxia: a low-risk research tool with therapeutic value in humans. Journal of Applied Physiology 118 (5):520-532.

Mateika JH, Syed Z (2013) Intermittent hypoxia, respiratory plasticity and sleep apnea in humans: Present knowledge and future investigations. Respiratory physiology & neurobiology 188 (3):289-300.

Matsuda M, Shimomura I (2014) Roles of adiponectin and oxidative stress in obesity-associated metabolic and cardiovascular diseases. Rev Endocr Metab Disord 15 (1):1-10.

Mawson JT, Braun B, Rock PB, Moore LG, Mazzeo R, Butterfield GE (2000) Women at altitude: energy requirement at 4,300 m. J Appl Physiol 88 (1):272-281.

McCulloch PF, Faber KM, Panneton WM (1999) Electrical stimulation of the anterior ethmoidal nerve produces the diving response. Brain research 830 (1):24-31.

McLean BD, Gore CJ, Kemp J (2014) Application of 'live low-train high' for enhancing normoxic exercise performance in team sport athletes. Sports Med 44 (9):1275-1287.

Mebius RE, Kraal G (2005) Structure and function of the spleen. Nat Rev Immunol 5 (8):606-616.

Meerson FZ, Frolov BA, Volianik MN, Boev VM, Bannikov VK, Smoliagin AI, Tverdokhleb VP, Afonina SN, Livshits NM, Frolova MA, et al. (1990) [The effect of adaptation to the periodic action of hypoxia on the indices of the immunity system and on the course of allergic diseases]. Patol Fiziol Eksp Ter 3:16-21.

Messere A, Roatta S (2013) Influence of cutaneous and muscular circulation on spatially resolved versus standard Beer-Lambert near-infrared spectroscopy. Physiol Rep 1 (7):1.

Millet GP, Roels B, Schmitt L, Woorons X, Richalet JP (2010) Combining hypoxic methods for peak performance. Sports Med 40 (1):1-25.

Mitchell JH (2013) Neural circulatory control during exercise: early insights. Exp Physiol 98 (4):867-878.

Mitchell JH, Kaufman MP, Iwamoto GA (1983) The exercise pressor reflex: its cardiovascular effects, afferent mechanisms, and central pathways. Annu Rev Physiol 45:229-242.

Miyazawa T, Horiuchi M, Komine H, Sugawara J, Fadel PJ, Ogoh S (2013) Skin blood flow influences cerebral oxygenation measured by near-infrared spectroscopy during dynamic exercise. Eur J Appl Physiol 113 (11):2841-2848.

Mollard P, Woorons X, Letournel M, Cornolo J, Lamberto C, Beaudry M, Richalet JP (2007) Role of maximal heart rate and arterial O2 saturation on the decrement of VO2max in moderate acute hypoxia in trained and untrained men. Int J Sports Med 28 (3):186-192.

Monahan KD, Leuenberger UA, Ray CA (2006) Effect of repetitive hypoxic apnoeas on baroreflex function in humans. J Physiol 574 (Pt 2):605-613.

Moore LG, Cymerman A, Huang SY, McCullough RE, McCullough RG, Rock PB, Young A, Young P, Weil JV, Reeves JT (1987) Propranolol blocks metabolic rate increase but not ventilatory acclimatization to 4300 m. Respir Physiol 70 (2):195-204.

Moore LG, Harrison GL, McCullough RE, McCullough RG, Micco AJ, Tucker A, Weil JV, Reeves JT (1986) Low acute hypoxic ventilatory response and hypoxic depression in acute altitude sickness, vol 60. vol 4.

Moore TO, Elsner R, Lin YC, Lally DA, Hong SK (1973) Effects of alveolar PO 2 and PCO 2 on apneic bradycardia in man. Journal of Applied Physiology 34 (6):795-798.

Moreau JM (2013) Intermittent Hypoxia Alters Metabolic and Cardiovascular Neural Pathways.

Morton G, Cummings D, Baskin D, Barsh G, Schwartz M (2006) Central nervous system control of food intake and body weight. Nature 443 (7109):289-295.

Motulsky H, Christopoulos A (2004) Fitting models to biological data using linear and nonlinear regression : a practical guide to curve fitting. Oxford University Press.

Motulsky HJ, Ransnas LA (1987) Fitting curves to data using nonlinear regression: a practical and nonmathematical review. Faseb J 1 (5):365-374.

Mourot L, Bouhaddi M, Gandelin E, Cappelle S, Dumoulin G, Wolf JP, Rouillon JD, Regnard J (2008) Cardiovascular autonomic control during short-term thermoneutral and cool head-out immersion. Aviat Space Environ Med 79 (1):14-20.

Mourot L, Bouhaddi M, Gandelin E, Cappelle S, Nguyen NU, Wolf JP, Rouillon JD, Hughson R, Regnard J (2007) Conditions of autonomic reciprocal interplay versus autonomic co-activation: effects on non-linear heart rate dynamics. Auton Neurosci 137 (1-2):27-36.

Moya A, Sutton R, Ammirati F, Blanc JJ, Brignole M, Dahm JB, Deharo JC, Gajek J, Gjesdal K, Krahn A, Massin M, Pepi M, Pezawas T, Ruiz Granell R, Sarasin F, Ungar A, van Dijk JG, Walma EP, Wieling W (2009) Guidelines for the diagnosis and management of syncope (version 2009). Eur Heart J 30 (21):2631-2671.

Muza SR, Beidleman BA, Fulco CS (2010) Altitude preexposure recommendations for inducing acclimatization. High altitude medicine & biology 11 (2):87-92.

Myers J, Wong M, Adhikarla C, Boga M, Challa S, Abella J, Ashley EA (2013) Cardiopulmonary and noninvasive hemodynamic responses to exercise predict outcomes in heart failure. J Card Fail 19 (2):101-107.

Naeije R (2010) Physiological adaptation of the cardiovascular system to high altitude. Prog Cardiovasc Dis 52 (6):456-466.

Navarrete-Opazo A, Mitchell GS (2014) Therapeutic potential of intermittent hypoxia: a matter of dose, vol 307. vol 10.

Nespoulet H, Wuyam B, Tamisier R, Saunier C, Monneret D, Remy J, Chabre O, Pepin JL, Levy P (2012) Altitude illness is related to low hypoxic chemoresponse and low oxygenation during sleep. The European respiratory journal : official journal of the European Society for Clinical Respiratory Physiology 40 (3):673-680.

Netzer N, Strohl K, Faulhaber M, Gatterer H, Burtscher M (2013) Hypoxia-Related Altitude Illnesses. Journal of Travel Medicine 20 (4):247-255.

Netzer NC, Chytra R, Kupper T (2008) Low intense physical exercise in normobaric hypoxia leads to more weight loss in obese people than low intense physical exercise in normobaric sham hypoxia. Sleep & breathing = Schlaf & Atmung 12 (2):129-134.

Neumayr G, Fries D, Mittermayer M, Humpeler E, Klingler A, Schobersberger W, Spiesberger R, Pokan R, Schmid P, Berent R (2014) Effects of Hiking at Moderate and Low Altitude on Cardiovascular Parameters in Male Patients With Metabolic Syndrome: Austrian Moderate Altitude Study. Wilderness & Environmental Medicine 25 (3):329-334.

Nguyen AD, McDonald JG, Bruick RK, DeBose-Boyd RA (2007) Hypoxia stimulates degradation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase through accumulation of lanosterol and hypoxia-inducible factor-mediated induction of insigs. J Biol Chem 282 (37):27436-27446.

Nguyen NT, Magno CP, Lane KT, Hinojosa MW, Lane JS (2008) Association of hypertension, diabetes, dyslipidemia, and metabolic syndrome with obesity: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999 to 2004. J Am Coll Surg 207 (6):928-934.

Nobrega ACL, O'Leary D, Silva BM, Marongiu E, Piepoli MF, Crisafulli A (2014) Neural Regulation of Cardiovascular Response to Exercise: Role of Central Command and Peripheral Afferents. BioMed Research International 2014:20.

Olson EB, Bohne CJ, Dwinell MR, Podolsky A, Vidruk EH, Fuller DD, Powell FL, Mitchel GS (2001) Ventilatory long-term facilitation in unanesthetized rats, vol 91. vol 2.

Overgaard K, Friis S, Pedersen RB, Lykkeboe G (2006) Influence of lung volume, glossopharyngeal inhalation and P(ET) O2 and P(ET) CO2 on apnea performance in trained breath-hold divers. Eur J Appl Physiol 97 (2):158-164.

Palada I, Bakovic D, Valic Z, Obad A, Ivancev V, Eterovic D, Shoemaker JK, Dujic Z (2008) Restoration of hemodynamics in apnea struggle phase in association with involuntary breathing movements. Respir Physiol Neurobiol 161 (2):174-181.

Palada I, Eterović D, Obad A, Bakovic D, Valic Z, Ivancev V, Lojpur M, Shoemaker JK, Dujic Z (2007a) Spleen and cardiovascular function during short apneas in divers. Journal of Applied Physiology 103 (6):1958-1963.

Palada I, Obad A, Bakovic D, Valic Z, Ivancev V, Dujic Z (2007b) Cerebral and peripheral hemodynamics and oxygenation during maximal dry breath-holds. Respiratory physiology & neurobiology 157:374-381.

Palmer BF, Clegg DJ (2014a) Ascent to altitude as a weight loss method: The good and bad of hypoxia inducible factor activation. Obesity 22 (2):311-317.

Palmer BF, Clegg DJ (2014b) Oxygen sensing and metabolic homeostasis. Mol Cell Endocrinol. 2014 Aug 15. pii: S0303-7207(14)00235-4.

Pan J, Tompkins WJ (1985) A real-time QRS detection algorithm. IEEE transactions on bio-medical engineering 32 (3):230-236.

Panneton WM (2013) The mammalian diving response: an enigmatic reflex to preserve life? Physiology 28 (5):284-297.

Panneton WM, Gan Q, Le J, Livergood RS, Clerc P, Juric R (2012) Activation of brainstem neurons by underwater diving in the rat. Front Physiol 3 (111):3.

Panneton WM, McCulloch PF, Sun W (2000) Trigemino-autonomic connections in the muskrat: the neural substrate for the diving response. Brain research 874 (1):48-65.

Panz VR, Raal FJ, Paiker J, Immelman R, Miles H (2005) Performance of the CardioChek PA and Cholestech LDX point-of-care analysers compared to clinical diagnostic laboratory methods for the measurement of lipids. Cardiovasc J S Afr 16 (2):112-117.

Pasarica M, Sereda OR, Redman LM, Albarado DC, Hymel DT, Roan LE, Rood JC, Burk DH, Smith SR (2009) Reduced Adipose Tissue Oxygenation in Human Obesity: Evidence for Rarefaction, Macrophage Chemotaxis, and Inflammation Without an Angiogenic Response. Diabetes 58 (3):718-725.

Patel HM, Heffernan MJ, Ross AJ, Muller MD (2014) Sex differences in forearm vasoconstrictor response to voluntary apnea. Am J Physiol Heart Circ Physiol 306 (3):6.

Pedroso FS, Riesgo RS, Gatiboni T, Rotta NT (2012) The Diving Reflex in Healthy Infants in the First Year of Life. Journal of Child Neurology 27 (2):168-171.

Peltola MA (2012) Role of editing of R-R intervals in the analysis of heart rate variability. Front Physiol 3 (148):00148.

Peng CK, Havlin S, Stanley HE, Goldberger AL (1995) Quantification of scaling exponents and crossover phenomena in nonstationary heartbeat time series. Chaos 5 (1):82-87.

Peng CK, Mietus J, Hausdorff JM, Havlin S, Stanley HE, Goldberger AL (1993) Long-range anticorrelations and non-Gaussian behavior of the heartbeat. Phys Rev Lett 70 (9):1343-1346.

Pérez de Heredia F, Wood IS, Trayhurn P (2010) Hypoxia stimulates lactate release and modulates monocarboxylate transporter (MCT1, MCT2, and MCT4) expression in human adipocytes. Pflugers Arch - Eur J Physiol 459 (3):509-518.

Perini R, Gheza A, Moia C, Sponsiello N, Ferretti G (2010) Cardiovascular time courses during prolonged immersed static apnoea. Eur J Appl Physiol 110 (2):277-283.

Perini R, Tironi A, Gheza A, Butti F, Moia C, Ferretti G (2008) Heart rate and blood pressure time courses during prolonged dry apnoea in breath-hold divers. Eur J Appl Physiol 104 (1):1-7.

Perrey S (2008) Non-invasive NIR spectroscopy of human brain function during exercise. Methods 45 (4):289-299.

Plews DJ, Laursen PB, Stanley J, Kilding AE, Buchheit M (2013) Training adaptation and heart rate variability in elite endurance athletes: opening the door to effective monitoring. Sports Med 43 (9):773-781.

Powell FL (2007) The influence of chronic hypoxia upon chemoreception. Respiratory physiology & neurobiology 157 (1):154-161.

Powell FL, Milsom WK, Mitchell GS (1998) Time domains of the hypoxic ventilatory response. Respiration physiology 112 (2):123-134.

Prabhakar NR, Kumar GK (2010) Mechanisms of sympathetic activation and blood pressure elevation by intermittent hypoxia. Respir Physiol Neurobiol 174 (1-2):156-161.

Prabhakar NR, Kumar GK, Peng YJ (2012) Sympatho-adrenal activation by chronic intermittent hypoxia. J Appl Physiol 113 (8):1304-1310.

Prabhakar NR, Semenza GL (2012) Adaptive and maladaptive cardiorespiratory responses to continuous and intermittent hypoxia mediated by hypoxia-inducible factors 1 and 2. Physiol Rev 92 (3):967-1003.

Prajapati B, Dunne MCM, Armstrong RA (2010) Sample size estimation and statistical power analyses. Optometry today 2010 (July).

Przybylowski T, Bangash M-F, Reichmuth K, Morgan BJ, Skatrud JB, Dempsey JA (2003) Mechanisms of the cerebrovascular response to apnoea in humans. The Journal of Physiology 548 (1):323-332.

Quintero P, Milagro FI, Campión J, Martínez JA (2010) Impact of oxygen availability on body weight management. Medical hypotheses 74 (5):901-907.

Ralevic V, Burnstock G (1998) Receptors for purines and pyrimidines. Pharmacological reviews 50 (3):413-492.

Rausch ME, Weisberg S, Vardhana P, Tortoriello DV (2008) Obesity in C57BL/6J mice is characterized by adipose tissue hypoxia and cytotoxic T-cell infiltration. Int J Obes 32 (3):451-463.

Read DJ (1967) A clinical method for assessing the ventilatory response to carbon dioxide. Australas Ann Med 16 (1):20-32.

Regazzetti C, Peraldi P, Grémeaux T, Najem-Lendom R, Ben-Sahra I, Cormont M, Bost F, Le Marchand-Brustel Y, Tanti J-F, Giorgetti-Peraldi S (2009) Hypoxia Decreases Insulin Signaling Pathways in Adipocytes. Diabetes 58 (1):95-103.

Rhee SG (1999) Redox signaling: hydrogen peroxide as intracellular messenger. Exp Mol Med 31 (2):53-59.

Ribeiro L, Busnello J, Licínio J (2007) Pulsatile and Diurnal Leptin Rhythms. In: Castracane VD, Henson M (eds) Leptin, vol 25. Endocrine Updates. Springer US, pp 247-262.

Ricart A, Casas H, Casas M, Pages T, Palacios L, Rama R, Rodriguez FA, Viscor G, Ventura JL (2000) Acclimatization near home? Early respiratory changes after short-term intermittent exposure to simulated altitude. Wilderness Environ Med 11 (2):84-88.

Richalet J-P (2012) Altitude et système cardiovasculaire. La Presse Médicale 41 (6, Part 1):638-643.

Richalet J-P, Canoui-Poitrine F (2014) Pro: Hypoxic cardiopulmonary exercise testing identifies subjects at risk for severe high altitude illnesses. High altitude medicine & biology 15 (3):315-317.

Richalet J-P, Larmignat P, Poitrine E, Letournel M, Canouï-Poitrine F (2012) Physiological Risk Factors for Severe High-Altitude Illness. American journal of respiratory and critical care medicine 185 (2):192-198.

Richalet JP, Bittel J, Herry JP, Savourey G, Le Trong JL, Auvert JF, Janin C (1992a) Use of a hypobaric chamber for pre-acclimatization before climbing Mount Everest. Int J Sports Med 13 (1):S216-220.

Richalet JP, Gimenez-Roqueplo AP, Peyrard S, Venisse A, Marelle L, Burnichon N, Bouzamondo A, Jeunemaitre X, Azizi M, Elghozi JL (2009) A role for succinate

dehydrogenase genes in low chemoresponsiveness to hypoxia? Clin Auton Res 19 (6):335-342.

Richalet JP, Kacimi R, Antezana AM (1992b) The control of cardiac chronotropic function in hypobaric hypoxia. Int J Sports Med 13 (1):S22-24.

Richalet JP, Larmignat P, Rathat C, Keromes A, Baud P, Lhoste F (1988) Decreased cardiac response to isoproterenol infusion in acute and chronic hypoxia. J Appl Physiol 65 (5):1957-1961.

Richter EA, Hargreaves M (2013) Exercise, GLUT4, and skeletal muscle glucose uptake. Physiol Rev 93 (3):993-1017.

Ritz T (2009) Studying noninvasive indices of vagal control: The need for respiratory control and the problem of target specificity. Biological Psychology 80 (2):158-168.

Roberts AC, Reeves JT, Butterfield GE, Mazzeo RS, Sutton JR, Wolfel EE, Brooks GA (1996) Altitude and beta-blockade augment glucose utilization during submaximal exercise. J Appl Physiol 80 (2):605-615.

Roecker K, Metzger J, Scholz T, Tetzlaff K, Sorichter S, Walterspacher S (2014) Modified ventilatory response characteristics to exercise in breath-hold divers. Int J Sports Physiol Perform 9 (5):757-765.

Rolfe P (2000) In vivo near-infrared spectroscopy. Annu Rev Biomed Eng 2:715-754.

Rosa DP, Martinez D, Picada JN, Semedo JG, Marroni NP (2011) Hepatic oxidative stress in an animal model of sleep apnoea: effects of different duration of exposure. Comp Hepatol 10 (1):1476-5926.

Rozloznik M, Paton JF, Dutschmann M (2009) Repetitive paired stimulation of nasotrigeminal and peripheral chemoreceptor afferents cause progressive potentiation of the diving bradycardia. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 296 (1):5.

Rupp T, Perrey S (2009) Effect of Severe Hypoxia on Prefrontal Cortex and Muscle Oxygenation Responses at Rest and During Exhaustive Exercise. In: Liss P, Hansell P, Bruley D, Harrison D (eds) Oxygen Transport to Tissue XXX, vol 645. Advances in Experimental Medicine and Biology. Springer US, pp 329-334.

Rushmer RF (1989) Structure and function of the cardiovascular system. Handbook of research methods in cardiovascular behavioral medicine. Springer.

Saadjian AY, Gerolami V, Giorgi R, Mercier L, Berge-Lefranc J-L, Paganelli F, Ibrahim Z, By Y, Guéant JL, Lévy S (2009) Head-up tilt induced syncope and adenosine A2A receptor gene polymorphism. European Heart Journal:ehp126.

Saadjian AY, Lévy S, Franceschi F, Zouher I, Paganelli F, Guieu RP (2002) Role of Endogenous Adenosine as a Modulator of Syncope Induced During Tilt Testing. Circulation 106 (5):569-574.

Sahn SA, Zwillich CW, Dick N, McCullough RE, Lakshminarayan S, Weil JV (1977) Variability of ventilatory responses to hypoxia and hypercapnia. J Appl Physiol 43 (6):1019-1025.

Saito M, Mano T, Iwase S, Koga K, Abe H, Yamazaki Y (1988) Responses in muscle sympathetic activity to acute hypoxia in humans. Journal of Applied Physiology 65 (4):1548-1552.

Sakamoto K, Holman GD (2008) Emerging role for AS160/TBC1D4 and TBC1D1 in the regulation of GLUT4 traffic. American journal of physiology Endocrinology and metabolism 295 (1):E29-E37.

Sakata S, Shimizu S, Kishi T, Hirai K, Mori I, Ohno Y, Ueda M, Takaki M, Kohzuki H, Okamoto S, Shimamoto I, Yanagi S, Ogoshi K, Sherchand JB (2000) Correlation between erythropoietin and lactate in humans during altitude exposure. Jpn J Physiol 50 (2):285-288.

Samuvel DJ, Sundararaj KP, Nareika A, Lopes-Virella MF, Huang Y (2009) Lactate boosts TLR4 signaling and NF-kappaB pathway-mediated gene transcription in macrophages via monocarboxylate transporters and MD-2 up-regulation. J Immunol 182 (4):2476-2484.

Sanchez J, Sebert P (1983) Sex differences in cardiac responses to breath holding during dynamic and isometric exercises. Eur J Appl Physiol Occup Physiol 50 (3):429-444.

Sawka MN, Convertino VA, Eichner ER, Schnieder SM, Young AJ (2000) Blood volume: importance and adaptations to exercise training, environmental stresses, and trauma/sickness. Med Sci Sports Exerc 32 (2):332-348.

Schaefer KE (1965) Adaptation to breath-hold diving. Physiology of breath-hold diving and the Ama of Japan Publication 1341:237ą252.

Schaefer KE, Hastings BJ, Carey CR, Nichols G (1963) Respiratory acclimatization to carbon dioxide. Journal of Applied Physiology 18 (6):1071-1078.

Schagatay E (2009) Predicting performance in competitive apnoea diving. Part I: static apnoea. Diving Hyperb Med 39 (2):88-99.

Schagatay E (2010) Predicting performance in competitive apnea diving, part II: dynamic apnoea. Diving Hyperb Med 40 (1):11-22.

Schagatay E, Andersson J (1998) Diving response and apneic time in humans. Undersea Hyperb Med 25 (1):13-19.

Schagatay E, Andersson JP, Hallen M, Palsson B (2001) Selected contribution: role of spleen emptying in prolonging apneas in humans. J Appl Physiol 90 (4):1623-1629.

Schagatay E, Andersson JP, Nielsen B (2007) Hematological response and diving response during apnea and apnea with face immersion. Eur J Appl Physiol 101 (1):125-132.

Schagatay E, Holm B (1996) Effects of water and ambient air temperatures on human diving bradycardia. Eur J Appl Physiol Occup Physiol 73 (1-2):1-6.

Schagatay E, van Kampen M, Andersson J (1999) Effects of repeated apneas on apneic time and diving response in non-divers. Undersea Hyperb Med 26 (3):143-149.

Schagatay E, van Kampen M, Emanuelsson S, Holm B (2000) Effects of physical and apnea training on apneic time and the diving response in humans. Eur J Appl Physiol 82 (3):161-169.

Schobersberger W, Schmid P, Lechleitner M, von Duvillard SP, Hortnagl H, Gunga HC, Klingler A, Fries D, Kirsch K, Spiesberger R, Pokan R, Hofmann P, Hoppichler F, Riedmann G, Baumgartner H, Humpeler E (2003) Austrian Moderate Altitude Study 2000 (AMAS 2000). The effects of moderate altitude (1,700 m) on cardiovascular and metabolic variables in patients with metabolic syndrome. Eur J Appl Physiol 88 (6):506-514.

Schoene RB (2008) Illnesses at high altitude. Chest 134 (2):402-416.

Scholander PF (1940) Experimental investigations on the respiratory function in diving mammals and birds.

Scholander PF, Irving L, Grinnell SW (1942) Aerobic and anaerobic changes in seal muscles during diving. Journal of Biological Chemistry 142 (1):431-440.

Schubert P, Komp W, Kreutzberg GW (1979) Correlation of 5′-nucleotidase activity and selective transneuronal transfer of adenosine in the hippocampus. Brain research 168 (2):419-424.

Schuitema K, Holm B (1988) The role of different facial areas in eliciting human diving bradycardia. Acta physiologica Scandinavica 132 (1):119-120.

Seals DR, Esler MD (2000) Human ageing and the sympathoadrenal system. J Physiol 528 (Pt 3):407-417.

Sebert P, Sanchez J (1981) Sexual and postural differences in cardioventilatory responses during and after breath holding at rest. Eur J Appl Physiol Occup Physiol 47 (3):209-222.

Serebrovskaya T, Karaban I, Kolesnikova E, Mishunina T, Kuzminskaya L, Serebrovsky A, Swanson R (1999) Human hypoxic ventilatory response with blood dopamine content under intermittent hypoxic training. Canadian journal of physiology and pharmacology 77 (12):967-973.

Serebrovskaya TV (2002) Intermittent hypoxia research in the former soviet union and the commonwealth of independent States: history and review of the concept and selected applications. High altitude medicine & biology 3 (2):205-221.

Serebrovskaya TV (2014) Lessons from a 20-Year Investigation of Intermittent Hypoxia: Principles and Practices. In: Singh SB, Prabhakar NR, Pentyala SN (eds) Translational Research in Environmental and Occupational Stress. Springer India, pp 267-274.

Serebrovskaya TV, Manukhina EB, Smith ML, Downey HF, Mallet RT (2008) Intermittent hypoxia: cause of or therapy for systemic hypertension? Exp Biol Med 233 (6):627-650.

Serebrovskaya TV, Nosar VI, Bratus LV, Gavenauskas BL, Mankovska IM (2013) Tissue oxygenation and mitochondrial respiration under different modes of intermittent hypoxia. High altitude medicine & biology 14 (3):280-288.

Shiraki K, Konda N, Sagawa S (1986) Cardiac output by impedance cardiography during head-out water immersion. Undersea biomedical.

Siebenmann C, Rasmussen P, Sørensen H, Zaar M, Hvidtfeldt M, Pichon A, Secher NH, Lundby C (2014) Cardiac output during exercise: A comparison of four methods. Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports:n/a-n/a.

Sierra-Johnson J, Romero-Corral A, Somers VK, Johnson BD (2008) Last Word on Viewpoint: Effect of altitude on leptin levels, does it go up or down? Journal of Applied Physiology 105 (5):1691-1691.

Simler N, Grosfeld A, Peinnequin A, Guerre-Millo M, Bigard AX (2006) Leptin receptor-deficient obese Zucker rats reduce their food intake in response to hypobaric hypoxia. American journal of physiology Endocrinology and metabolism 290 (3):18.

Simler N, Malgoyre A, Koulmann N, Alonso A, Peinnequin A, Bigard AX (2007) Hypoxic stimulus alters hypothalamic AMP-activated protein kinase phosphorylation concomitant to hypophagia. J Appl Physiol 102 (6):2135-2141.

Singh SN, Vats P, Shyam R, Suri S, Kumria MM, Ranganathan S, Sridharan K, Selvamurthy W (2001) Role of neuropeptide Y and galanin in high altitude induced anorexia in rats. Nutr Neurosci 4 (4):323-331.

Sivieri A, Fagoni N, Bringard A, Capogrosso M, Perini R, Ferretti G (2015) A beat-by-beat analysis of cardiovascular responses to dry resting and exercise apnoeas in elite divers. European Journal of Applied Physiology 115 (1):119-128.

Skurk T, Alberti-Huber C, Herder C, Hauner H (2007) Relationship between adipocyte size and adipokine expression and secretion. The Journal of clinical endocrinology and metabolism 92 (3):1023-1033.

Smith CA, Bisgard GE, Nielsen AM, Daristotle L, Kressin NA, Forster HV, Dempsey JA (1986) Carotid bodies are required for ventilatory acclimatization to chronic hypoxia. J Appl Physiol 60 (3):1003-1010.

Sollevi A (1986) Cardiovascular effects of adenosine in man; possible clinical implications. Progress in Neurobiology 27 (4):319-349.

Song SH, Kang DH, Kang BS, Hong SK (1963) Lung volumes and ventilatory responses to high CO2 and low O2 in the ama, vol 18. vol 3.

Song SH, Lee WK, Chung YA, Hong SK (1969) Mechanism of apneic bradycardia in man. Journal of Applied Physiology 27 (3):323-327.

Sperlich B, Zinner C, Pfister R, Holmberg H-C, Michels G (2014) Repeated apnea-induced contraction of the spleen in cyclists does not enhance performance in a subsequent time-trial. European Journal of Applied Physiology:1-8.

Spiess AN, Neumeyer N (2010) An evaluation of R2 as an inadequate measure for nonlinear models in pharmacological and biochemical research: a Monte Carlo approach. BMC Pharmacol 10 (6):1471-2210.

Spychala J, Datta NS, Takabayashi K, Datta M, Fox IH, Gribbin T, Mitchell BS (1996) Cloning of human adenosine kinase cDNA: sequence similarity to microbial ribokinases and fructokinases. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 93 (3):1232-1237.

Spyer KM (1990) The central nervous organization of reflex circulatory control. Central regulation of autonomic functions 98:168-188.

Steinback CD, Breskovic T, Banic I, Dujic Z, Shoemaker JK (2010a) Autonomic and cardiovascular responses to chemoreflex stress in apnoea divers. Auton Neurosci 156 (1-2):138-143.

Steinback CD, Breskovic T, Frances M, Dujic Z, Shoemaker JK (2010b) Ventilatory restraint of sympathetic activity during chemoreflex stress. American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology 299:R1407-1414.

Steinback CD, Poulin MJ (2007) Ventilatory responses to isocapnic and poikilocapnic hypoxia in humans. Respiratory physiology & neurobiology 155 (2):104-113.

Sterba JA, Lundgren CE (1988) Breath-hold duration in man and the diving response induced by face immersion. Undersea Biomed Res 15 (5):361-375.

Stewart IB, Bulmer AC, Sharman JE, Ridgway L (2005) Arterial oxygen desaturation kinetics during apnea. Med Sci Sports Exerc 37 (11):1871-1876.

Stewart IB, McKenzie DC (2002) The human spleen during physiological stress. Sports Med 32 (6):361-369.

Stock MJ, Norgan NG, Ferro-Luzzi A, Evans E (1978) Effect of altitude on dietary-induced thermogenesis at rest and during light exercise in man. J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol 45 (3):345-349.

Stocks JM, Taylor NA, Tipton MJ, Greenleaf JE (2004) Human physiological responses to cold exposure. Aviat Space Environ Med 75 (5):444-457.

Stromme SB, Kerem D, Elsner R (1970) Diving bradycardia during rest and exercise and its relation to physical fitness. J Appl Physiol 28 (5):614-621.

Subudhi AW, Dimmen AC, Roach RC (2007) Effects of acute hypoxia on cerebral and muscle oxygenation during incremental exercise. Journal of Applied Physiology 103 (1):177-183.

Sun K, Halberg N, Khan M, Magalang UJ, Scherer PE (2013) Selective inhibition of hypoxia-inducible factor 1alpha ameliorates adipose tissue dysfunction. Mol Cell Biol 33 (5):904-917.

Swanson RJ, Serebrovska Z (2012) Intermittent Hypoxia Remedies Male Subfertility. In: Xi L, Serebrovskaya TV (eds) Intermittent Hypoxia and Human Diseases. Springer London, pp 221-227.

Taneja I, Medow MS, Clarke DA, Ocon AJ, Stewart JM (2010) Postural change alters autonomic responses to breath-holding. Clin Auton Res 20 (2):65-72.

Tankersley CG (2001) Selected contribution: variation in acute hypoxic ventilatory response is linked to mouse chromosome 9. Journal of Applied Physiology 90 (4):1615-1622.

Tankersley CG, DiSilvestre DA, Jedlicka AE, Wilkins HM, Zhang L (1998) Differential inspiratory timing is genetically linked to mouse chromosome 3. Journal of Applied Physiology 85 (1):360-365.

Tanner RK, Fuller KL, Ross ML (2010) Evaluation of three portable blood lactate analysers: Lactate Pro, Lactate Scout and Lactate Plus. Eur J Appl Physiol 109 (3):551-559.

Tannheimer M (2010) Intermittent simulated hypoxia for pre-acclimatization. Sleep Breath. 2010 Sep;14(3):185-6. Epub 2009 Oct 15.

Tarvainen MP, Niskanen JP, Lipponen JA, Ranta-aho PO, Karjalainen PA (2013) Kubios HRV - Heart Rate Variability Analysis Software. Computer methods and programs in biomedicine (0).

Teppema LJ, Dahan A (2010) The Ventilatory Response to Hypoxia in Mammals: Mechanisms, Measurement, and Analysis. Physiological Reviews 90 (2):675-754.

Terrados N, Melichna J, Sylven C, Jansson E, Kaijser L (1988) Effects of training at simulated altitude on performance and muscle metabolic capacity in competitive road cyclists. Eur J Appl Physiol Occup Physiol 57 (2):203-209.

Tin'kov AN, Aksenov VA (2002) Effects of intermittent hypobaric hypoxia on blood lipid concentrations in male coronary heart disease patients. High altitude medicine & biology 3 (3):277-282.

Tobin B (2011) An Examination of Intermittent Hypoxia Exposure on Key Haematological and Immune-Stress Responses in Normally Active Humans.

Tocco F, Crisafulli A, Melis F, Porru C, Pittau G, Milia R, Concu A (2012a) Cardiovascular adjustments in breath-hold diving: comparison between divers and non-divers in simulated dynamic apnoea. Eur J Appl Physiol 112 (2):543-554.

Tocco F, Marongiu E, Pinna M, Roberto S, Pusceddu M, Angius L, Migliaccio G, Milia R, Concu A, Crisafulli A (2012b) Assessment of circulatory adjustments during underwater apnoea in elite divers by means of a portable device. Acta Physiol 14 (10):12000.

Tonelli AR, Alnuaimat H, Li N, Carrie R, Mubarak KK (2011) Value of impedance cardiography in patients studied for pulmonary hypertension. Lung 189:369-375.

Tordi N, Mourot L, Matusheski B, Hughson RL (2004) Measurements of cardiac output during constant exercises: comparison of two non-invasive techniques. International journal of sports medicine 25:145-149.

Trayhurn P (2013) Hypoxia and Adipose Tissue Function and Dysfunction in Obesity, vol 93. vol 1.

Trayhurn P (2014) Hypoxia and adipocyte physiology: implications for adipose tissue dysfunction in obesity. Annu Rev Nutr 34:207-236.

Trayhurn P, Wood IS (2004) Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. Br J Nutr 92 (3):347-355.

Trumbower RD, Jayaraman A, Mitchell GS, Rymer WZ (2012) Exposure to acute intermittent hypoxia augments somatic motor function in humans with incomplete spinal cord injury. Neurorehabil Neural Repair 26 (2):163-172.

Tulppo MP, Kiviniemi AM, Hautala AJ, Kallio M, Seppänen T, Mäkikallio TH, Huikuri HV (2005) Physiological Background of the Loss of Fractal Heart Rate Dynamics. Circulation 112 (3):314-319.

Tyberg JV, Grant DA, Kingma I, Moore TD, Sun Y-H, Smith ER, Belenkie I (2000) Effects of positive intrathoracic pressure on pulmonary and systemic hemodynamics. Respiration physiology 119 (2–3):171-179.

Urdampilleta A, Gonzalez-Muniesa P, Portillo MP, Martinez JA (2012) Usefulness of combining intermittent hypoxia and physical exercise in the treatment of obesity. J Physiol Biochem 68 (2):289-304.

Valic Z, Palada I, Bakovic D, Valic M, Mardesic-Brakus S, Dujic Z (2006) Muscle oxygen supply during cold face immersion in breath-hold divers and controls. Aviat Space Environ Med 77 (12):1224-1229.

van Beekvelt MC, Borghuis MS, van Engelen BG, Wevers RA, Colier WN (2001a) Adipose tissue thickness affects in vivo quantitative near-IR spectroscopy in human skeletal muscle. Clin Sci 101 (1):21-28.

Van Beekvelt MC, Colier WN, Wevers RA, Van Engelen BG (2001b) Performance of near-infrared spectroscopy in measuring local O(2) consumption and blood flow in skeletal muscle. J Appl Physiol 90 (2):511-519.

Vasar E, Kingisepp PH (1981) Physiological characteristics of repeated breath holding. In: Hutás I, Debreczeni LA (eds) Respiration. Pergamon, pp 639-646.

Verges S, Bachasson D, Wuyam B (2010) Effect of acute hypoxia on respiratory muscle fatigue in healthy humans. Respir Res 11 (109):1465-9921.

Verges S, Chacaroun S, Godin-Ribuot D, Baillieul S (2015) Hypoxic conditioning as a new therapeutic modality. Frontiers in Pediatrics 3.

Virtue S, Vidal-Puig A (2011) Nothing Iffy about HIF in the Hypothalamus. PLoS biology 9 (7):e1001116.

Voituron N, Jeton F, Cholley Y, Hasnaoui-Saadani RE, Marchant D, Quidu P, Favret F, Richalet JP, Pichon A (2014) Catalyzing role of erythropoietin on the nitric oxide central pathway during the ventilatory responses to hypoxia. Physiological Reports 2 (2):e00223.

Voss A, Schulz S, Schroeder R, Baumert M, Caminal P (2009) Methods derived from nonlinear dynamics for analysing heart rate variability. Philosophical transactions Series A, Mathematical, physical, and engineering sciences 367 (1887):277-296.

Wang N, Khan SA, Prabhakar NR, Nanduri J (2013) Impairment of pancreatic beta-cell function by chronic intermittent hypoxia. Exp Physiol 98 (9):1376-1385.

Wang ZY, Olson EB, Jr., Bjorling DE, Mitchell GS, Bisgard GE (2008) Sustained hypoxia-induced proliferation of carotid body type I cells in rats. J Appl Physiol 104 (3):803-808.

Wasse LK, Sunderland C, King JA, Batterham RL, Stensel DJ (2011) Influence of rest and exercise at a simulated altitude of 4,000 m on appetite, energy intake, and plasma concentrations of acylated ghrelin and peptide YY. J Appl Physiol 112 (4):552-559.

Wee J, Climstein M (2013) Hypoxic training: Clinical benefits on cardiometabolic risk factors. J Sci Med Sport 31 (13):00478-00477.

Weil JV, Byrne-Quinn E, Sodal IE, Friesen WO, Underhill B, Filley GF, Grover RF (1970) Hypoxic ventilatory drive in normal man. The Journal of clinical investigation 49 (6):1061-1072.

Wein J, Andersson JP, Erdeus J (2007) Cardiac and ventilatory responses to apneic exercise. Eur J Appl Physiol 100 (6):637-644.

Welsman J, Bywater K, Farr C, Welford D, Armstrong N (2005) Reliability of peak VO(2) and maximal cardiac output assessed using thoracic bioimpedance in children. European journal of applied physiology 94:228-234.

West NH, McCulloch PF, Browne PM (2001) Facial immersion bradycardia in teenagers and adults accustomed to swimming. Auton Neurosci 94 (1-2):109-116.

Whayne TF, Killip T (1967) Simulated diving in man: comparison of facial stimuli and response in arrhythmia. Journal of Applied Physiology 22 (4):800-807.

Wheaton WW, Chandel NS (2011) Hypoxia. 2. Hypoxia regulates cellular metabolism. American Journal of Physiology - Cell Physiology 300 (3):C385-C393.

White DP, Douglas NJ, Pickett CK, Weil JV, Zwillich CW (1983) Sexual influence on the control of breathing. J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol 54 (4):874-879.

Whyte D, Rowe G, Cormack S (2014) Comparison of the Lactate Pro 2 and i-Stat1 portable blood lactate analysers. Journal of Science and Medicine in Sport 18:e90.

Wilkins BW, Schrage WG, Liu Z, Hancock KC, Joyner MJ (2006) Systemic hypoxia and vasoconstrictor responsiveness in exercising human muscle. Journal of Applied Physiology 101 (5):1343-1350.

Wille M, Gatterer H, Mairer K, Philippe M, Schwarzenbacher H, Faulhaber M, Burtscher M (2012) Short-term intermittent hypoxia reduces the severity of acute mountain sickness. Scand J Med Sci Sports 22 (5):1600-0838.

Wood IS, de Heredia FP, Wang B, Trayhurn P (2009) Cellular hypoxia and adipose tissue dysfunction in obesity. Proc Nutr Soc 68 (4):370-377.

Wood IS, Wang B, Lorente-Cebrián S, Trayhurn P (2007) Hypoxia increases expression of selective facilitative glucose transporters (GLUT) and 2-deoxy-D-glucose uptake in human adipocytes. Biochemical and biophysical research communications 361 (2):468-473.

Woolcott OO, Ader M, Bergman RN (2015) Glucose Homeostasis During Short-term and Prolonged Exposure to High Altitudes. Endocrine Reviews 36 (2):149-173.

Woorons X, Bourdillon N, Vandewalle H, Lamberto C, Mollard P, Richalet JP, Pichon A (2010) Exercise with hypoventilation induces lower muscle oxygenation and higher blood lactate concentration: role of hypoxia and hypercapnia. Eur J Appl Physiol 110 (2):367-377.

Woorons X, Gamelin FX, Lamberto C, Pichon A, Richalet JP (2014) Swimmers can train in hypoxia at sea level through voluntary hypoventilation. Respir Physiol Neurobiol 190:33-39.

Woorons X, Mollard P, Pichon A, Duvallet A, Richalet JP, Lamberto C (2007a) Prolonged expiration down to residual volume leads to severe arterial hypoxemia in athletes during submaximal exercise. Respir Physiol Neurobiol 158 (1):75-82.

Woorons X, Mollard P, Pichon A, Duvallet A, Richalet JP, Lamberto C (2008) Effects of a 4-week training with voluntary hypoventilation carried out at low pulmonary volumes. Respir Physiol Neurobiol 160 (2):123-130.

Woorons X, Mollard P, Pichon A, Lamberto C, Duvallet A, Richalet JP (2007b) Moderate exercise in hypoxia induces a greater arterial desaturation in trained than untrained men. Scand J Med Sci Sports 17 (4):431-436.

Workman C, Basset F (2012) Post-metabolic response to passive normobaric hypoxic exposure in sedendary overweight males: a pilot study. Nutrition & Metabolism 9 (1):103.

Wright DC, Geiger PC, Holloszy JO, Han DH (2005) Contraction- and hypoxia-stimulated glucose transport is mediated by a Ca2+-dependent mechanism in slow-twitch rat soleus muscle. American journal of physiology Endocrinology and metabolism 288 (6):18.

Xi L, Serebrovskaya TV (2012) Intermittent hypoxia and human diseases. Springer.

Yang JN, Tiselius C, Daré E, Johansson B, Valen G, Fredholm BB (2007) Sex differences in mouse heart rate and body temperature and in their regulation by adenosine A1 receptors. Acta Physiologica 190 (1):63-75.

Ye J (2009) Emerging role of adipose tissue hypoxia in obesity and insulin resistance. Int J Obes 33 (1):54-66.

Ye J, Gao Z, Yin J, He Q (2007) Hypoxia is a potential risk factor for chronic inflammation and adiponectin reduction in adipose tissue of ob/ob and dietary obese mice. American journal of physiology Endocrinology and metabolism 293 (4):31.

Yin J, Gao Z, He Q, Zhou D, Guo Z, Ye J (2009) Role of hypoxia in obesity-induced disorders of glucose and lipid metabolism in adipose tissue. American journal of physiology Endocrinology and metabolism 296 (2):9.

Yubero-Serrano EM, Delgado-Lista J, Pena-Orihuela P, Perez-Martinez P, Fuentes F, Marin C, Tunez I, Jose Tinahones F, Perez-Jimenez F, Roche HM, Lopez-Miranda J (2013) Oxidative stress is associated with the number of components of metabolic syndrome: LIPGENE study. Exp Mol Med 45:e28.

Yun Z, Maecker HL, Johnson RS, Giaccia AJ (2002) Inhibition of PPAR gamma 2 gene expression by the HIF-1-regulated gene DEC1/Stra13: a mechanism for regulation of adipogenesis by hypoxia. Dev Cell 2 (3):331-341.

Yusuke I, Ai N, Shinya M, Hirofumi H (2013) Effect of Breath Holding on Spleen Volume Measured by Magnetic Resonance Imaging. PloS one 8 (6).

Zhang H, Zhang G, Gonzalez FJ, Park S-m, Cai D (2011) Hypoxia-inducible factor directs POMC gene to mediate hypothalamic glucose sensing and energy balance regulation. PLoS biology 9 (7):e1001112.

Zhang P, Downey HF, Chen S, Shi X (2014) Two-week Normobaric Intermittent-Hypoxia Exposures Enhance Oxyhemoglobin Equilibrium and Cardiac Responses during Hypoxemia.

Zhang S, Robbins PA (2000) Methodological and physiological variability within the ventilatory response to hypoxia in humans. Journal of Applied Physiology 88 (5):1924-1932.

Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM (1994) Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature 372 (6505):425-432.

Zoretić D, Grčić-Zubčević N, Zubčić K (2014) The effects of hypercapnic-hypoxic training program on hemoglobin concentration and maximum oxygen uptake of elite swimmers. Kineziologija 46 (Supplement 1):40-45.

Zuo L, Roberts W, Tolomello R, Goins A (2013) Ischemic and hypoxic preconditioning protect cardiac muscles via intracellular ROS signaling. Front Biol 8 (3):305-311.

PARTIE VI :

ANNEXES

VI.1 Annexe 1 : Algorithme du PhysioFlow®

Le calcul de SVi par l'algorithme du PhysioFlow® s'opère en deux étapes et nécessite au préalable une calibration initiale (SVi_{cal}). Ainsi, et avant tout enregistrement, l'appareil réalise une calibration sur 30 cycles cardiaques consécutifs en repérant deux points fondamentaux :

- Le plus grand différentiel d'impédance pendant une systole ventriculaire ($Z_{max} - Z_{min}$, **figure 83**).
- La valeur maximale du taux d'impédance représentant l'index de contractilité ($dZ/dt_{\max}$ ou CTI en ohm.s^{-1}). Elle reflète la vitesse d'éjection de pointe dans l'aorte descendante. Plus le coefficient directeur de la pente est grand et plus la contractilité myocardique est importante (**figure 83**).

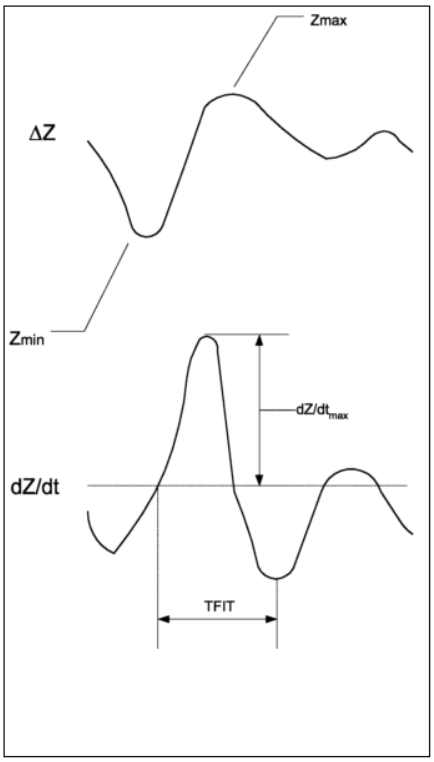


Figure 83 : Tracés d'impédance obtenues à partir du PhysioFlow® : le premier représente le signal d'impédance et le second la dérivée de ce signal (dZ/dt).

Puis, le $VESi$ est intégré en fonction du TFIT (Thoracic Flow Inversion Time). Celui-ci correspond au temps d'éjection ventriculaire (TEV) et se détermine à partir de la première dérivée de l'impédance (dZ/dt). Il est représenté graphiquement par l'intervalle de temps entre le début du cycle cardiaque (précisément le début du complexe QRS de l'ECG) et la

valeur la plus basse après $dZ/dt_{\max}$ (**figure 83**). À la fin de la calibration et grâce à un algorithme prioritaire, le TFIT est pondéré [$W(TFIT)$] en fonction de la Fc et de la pression pulsée (différence entre la pression systolique et diastolique). La Fc est obtenue à partir de l'intervalle R-R sur la première dérivée de l'ECG, fournissant des données plus stables que le simple tracé de l'ECG. La calibration du VESi ($VESi_{cal}$) est alors calculée de la façon suivante :

$$VESi_{cal} = k \cdot \left(\frac{\frac{dZ}{dt_{max}}}{Z_{max} - Z_{min}} \right) \cdot W(TFIT)$$

Avec k représentant une constante.

Les concepteurs du PhysioFlow® ont démontré que le VES dépendait des variations du CTI et du $TFIT$. Par conséquent, pendant la phase d'enregistrement, les variables évoquées ci-dessus sont comparées en temps réel aux valeurs fournies par la calibration afin de déterminer les valeurs du SVi telles que :

$$VESi = VESi_{cal} \cdot \sqrt[3]{\left(\frac{CTI}{CTI_{cal}}\right) \cdot \left(\frac{TFIT_{cal}}{TFIT}\right)}$$

Enfin, et en reprenant la formule initiale (i.e. $DC = Fc \cdot VESi \cdot SC$), il est alors possible d'obtenir battement par battement l'évolution du DC :

$$DC = Fc \cdot VESi_{cal} \cdot \sqrt[3]{\left(\frac{CTI}{CTI_{cal}}\right) \cdot \left(\frac{TFIT_{cal}}{TFIT}\right)} \cdot SC$$

Avec SC, représentant la surface corporelle.

VI.2 Annexe 2 : Limites inférieures et supérieures des paramètres initiaux du modèle

Tableau 18 : Limites inférieures et supérieures des paramètres initiaux du modèle tri-phasique (apnée statique). Pour chacun des paramètres, la valeur initiale était fixée à 1, à l'exception du paramètre Fc_{max} (paramètre contraint).

limite inférieure	*Paramètres du modèle*	*Limite supérieure*
--	**Fc_{max} (= 100)**	--
30 <	**A (%)**	$+\infty$
0 <	**τ (min.)**	< 60
0 <	**B**	$+\infty$
80 <	**O_{2bp} (min.)**	< 200
0 <	**C (%.min^{-1})**	$+\infty$

VI.3 Annexe 3 : Calcul des intervalles de confiance des paramètres dérivés du modèle

Pour des raisons que nous ignorons, le logiciel Origin Pro® n'était pas en mesure de calculer les intervalles de confiance des paramètres dérivés du modèle, i.e. T_{min} et $A_{\%Fc}$. Afin de pallier cette problématique, nous avons calculé manuellement ces intervalles de confiance d'après la loi de propagation des incertitudes, dont la formule permet d'estimer la variance de paramètres dérivés d'un modèle de régression :

$$\sigma_z^2 = \sum_i^P \sum_j^P \frac{\partial z}{\partial \theta_i} COV_{\theta i \theta j} \frac{\partial z}{\partial \theta_j}$$

Avec $COV_{\theta i \theta j}$ la covariance des variables (θ_i , θ_j) avec (i = 1, 2, …, p), (j = 1, 2, …, p) et z = $f(\theta_i, \theta_j, \theta_p)$.

Sachant que :

$$T_{min} = \tau \cdot \ln\left(\frac{A}{B \cdot \tau}\right)$$

Et

$$A_{\%FC} = A - B \cdot \tau \cdot \left[1 + \ln\left(\frac{A}{B \cdot \tau}\right)\right]$$

Alors les estimations des erreurs-types de T_{min} et $A_{\%FC}$ (respectivement $SE_{T_{min}}$ et $SE_{A_{\%Fc}}$) peuvent s'exprimer de la façon suivante :

$$SE_{T_{min}} = \sqrt{\left(\frac{\partial T_{min}}{\partial A}\right)^2 \cdot \sigma_A^2 + \left(\frac{\partial T_{min}}{\partial B}\right)^2 \cdot \sigma_B^2 + \left(\frac{\partial T_{min}}{\partial \tau}\right)^2 \cdot \sigma_\tau^2 + 2 \cdot \left(\frac{\partial T_{min}}{\partial A}\frac{\partial T_{min}}{\partial B}\right) \cdot COV_{A,B} + 2 \cdot \left(\frac{\partial T_{min}}{\partial A}\frac{\partial T_{min}}{\partial \tau}\right) \cdot COV_{A,\tau} + 2 \cdot \left(\frac{\partial T_{min}}{\partial B}\frac{\partial T_{min}}{\partial \tau}\right) \cdot COV_{B,\tau}}$$

$$SE_{A_{\%Fc}} = \sqrt{\left(\frac{\partial A_{\%Fc}}{\partial A}\right)^2 \cdot \sigma_A^2 + \left(\frac{\partial A_{\%Fc}}{\partial B}\right)^2 \cdot \sigma_B^2 + \left(\frac{\partial A_{\%Fc}}{\partial \tau}\right)^2 \cdot \sigma_\tau^2 + 2 \cdot \left(\frac{\partial A_{\%Fc}}{\partial A}\frac{\partial A_{\%Fc}}{\partial B}\right) \cdot COV_{A,B} + 2 \cdot \left(\frac{\partial A_{\%Fc}}{\partial A}\frac{\partial A_{\%Fc}}{\partial \tau}\right) \cdot COV_{A,\tau} + 2 \cdot \left(\frac{\partial A_{\%Fc}}{\partial B}\frac{\partial A_{\%Fc}}{\partial \tau}\right) \cdot COV_{B,\tau}}$$

Ainsi, pour résoudre ces deux équations, il a été nécessaire de :

- Calculer les dérivées partielles (**tableau 19**).
- Récupérer la matrice de covariance des paramètres du modèle fournie par le logiciel Origin Pro, et notamment *A*, *B* et *τ* (indiqués en **gras** dans les t**ableaux 20 et 21**).

Tableau 19 : Tableau des dérivées partielles (expressions littérales et résultats numériques).

Dérivées partielles (expressions littérales)		**Résultats numériques**	
		Apnée (Air libre)	**Apnée (Immersion)**
$\partial T_{min}/\partial A$	= τ/A	0,00853	0,00600
$\partial T_{min}/\partial B$	= -τ/B	-0,07297	-0,09398
$\partial T_{min}/\partial t$	= ln(A/B* τ) -1	2,15415	2,98983
$\partial A_{\%Fc}/\partial A$	= 1- B* τ/A	0,95733	0,98150
$\partial A_{\%Fc}/\partial B$	= - τ*ln(A/B*τ)	-1,15079	-1,15605
$\partial A_{\%Fc}/\partial t$	= -B*ln(A/B*τ)	-15,77077	-12,30058

Tableau 20 : Matrice de covariance des paramètres du modèle tri-phasique (apnée statique à l'air libre). Les résultats en **gras** indiquent les covariances des couples de paramètre qui ont été utilisées pour estimer les erreurs-types de T_{min} et $A_{\%Fc}$.

Apnée à l'air libre					
	A	**τ**	**O_{2bp}**	**B**	**C**
A	7,5163	**0,07591**	-0,14967	**4,38825**	-0,01116
τ	0,07591	8,75E-04	-1,31E-03	0,04298	-9,76E-05
O_{2bp}	-0,14967	-1,31E-03	0,00909	-0,10164	0,03872
B	4,38825	**0,04298**	-0,10164	2,65E+00	-7,58E-03
C	-0,01116	-9,76E-05	0,03872	-7,58E-03	0,50822

Tableau 21 : Matrice de covariance des paramètres du modèle tri-phasique (apnée statique en immersion). Les résultats en **gras** indiquent les covariances des couples de paramètre qui ont été utilisées pour estimer les erreurs-types de T_{min} et $A_{\%Fc}$.

Apnée en immersion					
	A	**τ**	**O_{2bp}**	**B**	**C**
A	2,09607	**0,02365**	-0,10067	**1,21986**	-3,34E-14
τ	0,02365	3,34E-04	-9,42E-04	0,01311	-3,34E-16
O_{2bp}	-0,10067	-9,42E-04	0,01659	-0,07036	0,04315
B	1,21986	**0,01311**	-0,07036	7,49E-01	-2,11E-14
C	-3,49E-14	-3,50E-16	0,04315	-2,20E-14	0,30696

Enfin, les intervalles de confiance [IC, 95%] respectifs de T_{min}et $A_{\%FC}$ ont été calculés à partir de la formule suivante (**tableau 22**) :

$$T_{min} - z_{\frac{\alpha}{2}} \cdot \frac{\sqrt{\sigma^2_{T_{min}}}}{\sqrt{n}} \leq T_{min} \leq T_{min} + z_{\frac{\alpha}{2}} \cdot \frac{\sqrt{\sigma^2_{T_{min}}}}{\sqrt{n}}$$

$$A_{\%FC} - z_{\frac{\alpha}{2}} \cdot \frac{\sqrt{\sigma^2_{A_{\%Fc}}}}{\sqrt{n}} \leq A_{\%FC} \leq A_{\%FC} + z_{\frac{\alpha}{2}} \cdot \frac{\sqrt{\sigma^2_{A_{\%Fc}}}}{\sqrt{n}}$$

Avec α, l'intervalle de confiance (95%) ; z, la constante de type z-score ; σ, l'écart-type ; n, la taille d'échantillon.

Tableau 22 : Intervalles de confiance (95%) des deux paramètres dérivés du modèle dans les deux conditions expérimentales.

Paramètres	Apnée (air libre)	Intervalle de Confiance [IC]	Apnée (immersion)	Intervalles de Confiance [IC]
T_{min}	1,15	[1,05 - 1,25]	1,16	[1,07 - 1,24]
$A_{\%Fc}$	35,17	[34,26 - 36,08]	43,82	[43,19 - 44,45]

VI.4 Annexe 4 : ANOVA à plan d'expérience mixte avec SPSS

Quand une analyse implique à la fois des facteurs intra-sujets et des facteurs inter-sujets, il sera question d'ANOVA à mesures répétées avec facteurs inter-sujets ou encore d'ANOVA à plan d'expérience mixte (de l'anglais, *mixed-design ANOVA* ou *split-plot ANOVA*). Ce type d'ANOVA a été utilisé pour l'analyse statistique des données provenant du projet FreeHypox, car celui-ci nécessitait une comparaison d'un facteur inter-sujet (apnéistes vs témoins) avec un facteur intra-sujet à mesures répétées (25%, 50%, 75% et 100% du temps d'apnée).

Grâce au module « modèle linéaire général » implémenté dans le logiciel SPSS, il est possible d'obtenir les interactions entre les facteurs d'une ANOVA à plan d'expérience mixte. En revanche, ce module ne fournit pas directement les effets simples, i.e. l'effet d'un facteur sur la modalité de l'autre facteur (et *vice versa*). Pour effectuer ce type d'analyse, il est impératif de passer par la syntaxe du logiciel (en cliquant sur le bouton « coller ») puis de rajouter les deux commandes suivantes, indiquées en **gras** :

```
GLM T1 T2 T3 T4 T5 T6 BY groupes
  /WSFACTOR=temps 6 Polynomial
  /MEASURE=tHB
  /METHOD=SSTYPE(3)
  /PLOT=PROFILE(temps*groupes)
  /EMMEANS=TABLES(groupes*temps) COMPARE(temps) adj(BONFERRONI)
  /EMMEANS=TABLES(groupes*temps) COMPARE(groupes) adj(BONFERRONI)
  /PRINT=DESCRIPTIVE HOMOGENEITY
  /CRITERIA=ALPHA(.05)
  /WSDESIGN=temps
  /DESIGN=groupes.
```

Enfin, en cliquant sur l'icône « sélection », le logiciel sera désormais en mesure de fournir les effets simples recherchés, i.e. l'effet groupe sur le temps d'apnée ainsi que l'effet du temps d'apnée en fonction du groupe (les **tableaux 23 et 24** présentés ci-dessous illustrent une comparaison des cinétiques de l'hémoglobine totale [tHb] entre les deux groupes au cours de l'apnée) :

Tableau 23 : Effets simples du temps d'apnée sur la [tHb] en fonction du groupe.

Mesure : [tHB]							
						Intervalle de confiance à 95 % pour la différence[b]	
groupes	(I) temps d'apnée	(J) temps d'apnée	Différence moyenne (I-J)	Erreur std.	Signification[b]	Borne inférieure	Borne supérieure
Apnéistes	0%	25%	,936	,784	1,000	-1,670	3,542
		50%	1,212	,986	1,000	-2,067	4,492
		75%	2,839	1,294	,457	-1,465	7,143
		100%	6,600*	1,432	,004	1,837	11,363
	25%	0%	-,936	,784	1,000	-3,542	1,670
		50%	,276	,667	1,000	-1,941	2,493
		75%	1,903	1,068	,964	-1,648	5,454
		100%	5,664*	1,595	,032	,360	10,969
	50%	0%	-1,212	,986	1,000	-4,492	2,067
		25%	-,276	,667	1,000	-2,493	1,941
		75%	1,627	,619	,198	-,430	3,684
		100%	5,388*	1,258	,008	1,204	9,572
	75%	0%	-2,839	1,294	,457	-7,143	1,465
		25%	-1,903	1,068	,964	-5,454	1,648
		50%	-1,627	,619	,198	-3,684	,430
		100%	3,761*	1,087	,038	,147	7,375
	100%	0%	-6,600*	1,432	,004	-11,363	-1,837
		25%	-5,664*	1,595	,032	-10,969	-,360
		50%	-5,388*	1,258	,008	-9,572	-1,204
		75%	-3,761*	1,087	,038	-7,375	-,147
Témoins	0%	25%	,396	,889	1,000	-2,559	3,351
		50%	-,767	1,118	1,000	-4,486	2,952
		75%	-,484	1,468	1,000	-5,365	4,396
		100%	1,064	1,624	1,000	-4,336	6,465
	25%	0%	-,396	,889	1,000	-3,351	2,559
		50%	-1,164	,756	1,000	-3,677	1,350
		75%	-,881	1,211	1,000	-4,907	3,145
		100%	,668	1,809	1,000	-5,347	6,683
	50%	0%	,767	1,118	1,000	-2,952	4,486
		25%	1,164	,756	1,000	-1,350	3,677
		75%	,283	,701	1,000	-2,050	2,615
		100%	1,832	1,426	1,000	-2,912	6,575

Mesure : [tHB]							
						Intervalle de confiance à 95 % pour la différence[b]	
groupes	(I) temps d'apnée	(J) temps d'apnée	Différence moyenne (I-J)	Erreur std.	Signification[b]	Borne inférieure	Borne supérieure
	75%	0%	,484	1,468	1,000	-4,396	5,365
		25%	,881	1,211	1,000	-3,145	4,907
		50%	-,283	,701	1,000	-2,615	2,050
		100%	1,549	1,232	1,000	-2,549	5,647
	100%	0%	-1,064	1,624	1,000	-6,465	4,336
		25%	-,668	1,809	1,000	-6,683	5,347
		50%	-1,832	1,426	1,000	-6,575	2,912
		75%	-1,549	1,232	1,000	-5,647	2,549

Basées sur les moyennes marginales estimées.

*. La différence moyenne est significative au niveau ,05.

b. Ajustement pour les comparaisons multiples : Bonferroni.

Tableau 24 : Effets simples du type de groupe sur la [tHb] en fonction du temps d'apnée.

Mesure : tHb							
						Intervalle de confiance à 95 % pour la différence[b]	
temps	(I) groupes	(J) groupes	Différence moyenne (I-J)	Erreur std.	Signification[b]	Borne inférieure	Borne supérieure
Début d'apnée	Apnéistes	Témoins	,000	,000	.	,000	,000
	Apnéistes	Témoins	,000	,000	.	,000	,000
25% du temps d'apnée	Apnéistes	Témoins	-,540	1,185	,656	-3,081	2,001
	Apnéistes	Témoins	,540	1,185	,656	-2,001	3,081
50% du temps d'apnée	Apnéistes	Témoins	-1,979	1,491	,206	-5,177	1,218
	Apnéistes	Témoins	1,979	1,491	,206	-1,218	5,177
75% du temps d'apnée	Apnéistes	Témoins	-3,324	1,957	,112	-7,520	,873
	Apnéistes	Témoins	3,324	1,957	,112	-,873	7,520
100% du temps d'apnée	Apnéistes	Témoins	-5,536*	2,165	,023	-10,180	-,892
	Apnéistes	Témoins	5,536*	2,165	,023	,892	10,180

Basées sur les moyennes marginales estimées.

*. La différence moyenne est significative au niveau ,05.

b. Ajustement pour les comparaisons multiples : Bonferroni.

VI.5 Annexe 5 : Contrat doctoral

UNIVERSITÉ DE ROUEN

CONTRAT D'ENGAGEMENT EN QUALITE DE DOCTORANT CONTRACTUEL

- Vu le code de la recherche, et notamment son article L. 412-2 ;
- Vu le code de la propriété intellectuelle articles L. 611-7 et R. 611-11 à R. 611-14 ;
- Vu le décret n°84-431 du 6 juin 1984 modifié fixant les dispositions statutaires communes applicables aux enseignants-chercheurs et portant statut particulier du corps des professeurs des universités et du corps des maîtres de conférence ;
- Vu le décret n°2009-464 du 23 avril 2009 relatif aux doctorants contractuels des établissements publics d'enseignement supérieur ou de recherche ;
- Vu l'arrêté du 23 avril 2009 fixant le montant de la rémunération du doctorant contractuel ;
- Vu la proposition du directeur de l'école doctorale ;
- Vu l'avis du directeur de thèse et du directeur de l'unité ou de l'équipe de recherche concernée ;
- Vu la décision du conseil scientifique de l'établissement employeur (le cas échéant si l'étudiant est dans la situation prévue au 2ème alinéa de l'article 3 du décret du 23 avril 2009).

Imputation : 6411 13 10

Entre les soussignés,
Le Président de l'Université de Rouen ,d'une part,
Et M. GUILLAUME COSTALAT d'autre part,
ci-après désigné « le doctorant contractuel ».

Il a été convenu ce qui suit :

Article 1er : objet

M. Guillaume COSTALAT inscrit(e) le 20/09/2012 en doctorat à l'ED HSRT est engagé(e) en qualité de doctorant contractuel.

Article 2 : conditions de préparation du doctorat

Le doctorant contractuel prépare un doctorat sur le thème : EFFETS DE L'HYPOXIE CHEZ LE SUJET SAIN ET PATHOLOGIQUE.

- Sous la direction de M. Frédéric Lemaitre habilité(e) à diriger les recherches en sciences et techniques des activités physiques et sportives.
  co-directrice : Mme Claire Tourny, habilitée à diriger les recherches en sciences et techniques des activités physiques et sportives
- Dans l'unité recherche : EA3832 CETAPS située à l'UFR de sciences du sport et de l'education physique .

Article 3 : durée du contrat

Le présent contrat prend effet à compter du 01/10/2012, pour une durée de trois ans, conformément aux dispositions de l'article 3 du décret du 23 avril 2009 susvisé.
La rupture du contrat avant son terme par l'une ou l'autre des parties s'effectue dans les conditions prévues par le titre XI du décret du 17 janvier 1986 susvisé.
Si l'inscription en doctorat n'est pas renouvelée, il est mis fin de plein droit au contrat de doctorant contractuel au terme de la première ou de la deuxième année du contrat, dans les conditions et avec les indemnités prévues aux titres XI et XII du décret du 17 janvier 1986 susvisé.

Article 4 : période d'essai

Le doctorant contractuel effectue une période d'essai d'une durée de deux mois. Durant cette période, le contrat doctoral peut être rompu par le doctorant contractuel ou le chef d'établissement, sans indemnité ni préavis, par lettre recommandée avec accusé de réception.

Article 5 : service annuel confié au doctorant

Le service confié au doctorant contractuel est arrêté annuellement par le chef d'établissement sur proposition du directeur de l'école doctorale, après avis du directeur de thèse et du directeur de l'unité de recherche, et avis du doctorant contractuel. Ce service est fixé dans le cadre des missions définies comme suit :

- Le doctorant contractuel accomplira, pendant la durée de son contrat, un service annuel qui sera exclusivement consacré aux activités de recherche liées à la préparation de son doctorat.

G.C

OU

- Le doctorant contractuel accomplira, pendant la durée de son contrat, un service annuel qui comprendra, pour les cinq sixième de son temps de travail effectif, les activités de recherche liées à la préparation de son doctorat, et, pour un sixième de son temps de travail, une ou des activités parmi celles listées ci-dessous :

- Enseignement dans le cadre d'une équipe pédagogique, pour un service annuel au plus égal au tiers du service annuel d'enseignement de référence des enseignants-chercheurs, défini à l'article 7 du décret du 6 juin 1984 susvisé ;

- Diffusion de l'information scientifique et technique pour une durée annuelle maximale de 268 heures ou 32 jours ;

- Valorisation des résultats de la recherche scientifique et technique pour une durée annuelle maximale de 268 heures ou 32 jours ;

- Missions d'expertise effectuées dans une entreprise, une collectivité territoriale, une administration, un établissement public, une association ou une fondation pour une durée annuelle maximale de 268 heures ou 32 jours.

Article 5bis : modification des missions en cours de contrat

La liste des activités fixée ci-dessus pourra être modifiée chaque année par avenant sous réserve d'obtenir l'accord conjoint du doctorant contractuel et du chef d'établissement. Cet avenant précisera, notamment, la nature des missions confiées, leurs modalités d'exercice et le niveau de rémunération retenu.

Article 6 : rémunération

Le bénéficiaire du présent contrat perçoit, pour un travail à temps plein, une rémunération mensuelle brute de 1684.93€. Cette rémunération est indexée sur l'évolution des rémunérations de la fonction publique.
L'avenant au contrat précise le complément de rémunération en fonction des missions confiées au doctorant contractuel.
Il peut, le cas échéant, prétendre au bénéfice du supplément familial de traitement et à la prise en charge de ses frais d'abonnement de transport et de ses frais de missions.

Article 7 : formation

L'établissement propose au doctorant contractuel les formations utiles à l'accomplissement des missions qui lui sont confiées.
Cette formation lui sera proposée notamment dans le cadre de son école doctorale le collège des écoles doctorales dans lequel l'établissement est impliqué ou par tout autre service interne ou toute autre structure mandatée par le chef d'établissement.

Article 8 : obligation de réserve et confidentialité

Le doctorant contractuel est soumis aux obligations incombant à l'ensemble des agents publics, notamment celle d'obéissance hiérarchique et à l'obligation de réserve. Il est également tenu au secret professionnel à l'égard des tiers en ce qui concerne les activités exercées dans l'établissement.

Le doctorant s'engage à considérer comme strictement confidentielles les informations de toute nature, communiquées par tous moyens, dont il pourrait avoir connaissance à l'occasion de l'exécution du présent contrat.
Cette obligation de confidentialité reste en vigueur pendant la durée du contrat.

Article 9 : propriété intellectuelle

Les missions confiées au doctorant au titre du présent contrat de travail comportent une mission inventive permanente.
En conséquence et conformément à la législation en vigueur en matière de propriété intellectuelle (articles L. 611-7 et R. 611-11 à R. 611-14 notamment), les inventions faites par le doctorant appartiennent à l'établissement.
Le doctorant reconnaît que l'établissement est propriétaire de tout autre résultat valorisable, protégeable ou non par un titre de propriété intellectuelle.
Ainsi, les logiciels créés par le doctorant dans le cadre du présent contrat appartiennent à l'établissement en application de l'article L.113-9 du code de la propriété intellectuelle.

En outre, le doctorant s'engage à céder à l'établissement, par le biais de cessions de droits particuliers, la propriété pleine et entière des résultats protégés par le droit d'auteur qu'il pourrait obtenir ou pourrait contribuer à obtenir.
L'établissement dispose seul du droit de déposer les titres de propriété intellectuelle correspondants aux résultats précités.
L'établissement s'engage à ce que le nom du doctorant, s'il est considéré comme inventeur, soit mentionné dans les demandes de brevets, à moins que le doctorant ne s'y oppose.

Le doctorant s'engage à donner toutes signatures et à prêter son entier concours à l'établissement pour les procédures de protection de ces résultats (notamment pour le dépôt éventuel d'une demande de brevet, son maintien en vigueur et sa défense) ainsi que pour leur exploitation et ce tant en France qu'à l'étranger.
L'ensemble de ces dispositions demeure valable à l'expiration du contrat.

Article 10 : publications

Le doctorant doit solliciter de manière expresse de l'autorité hiérarchique, l'autorisation de publier.
Toute publication ou communication du doctorant, liée aux travaux de recherche effectués dans le cadre de ce contrat, doit explicitement mentionner le nom de l'unité de recherche et de l'établissement.
Ces dispositions demeurent en vigueur pendant la durée du contrat.

G.C

Article 11 : pouvoir disciplinaire

L'exercice du pouvoir disciplinaire s'exerce dans les conditions prévues par le titre X du décret du 17 janvier 1986 susvisé.

Article 12 : couverture sociale

Le doctorant contractuel sera affilié au régime général de sécurité sociale pour ce qui concerne les prestations d'assurance sociale, notamment de l'assurance maladie, et au régime de l'IRCANTEC pour ce qui concerne la retraite complémentaire.
Il bénéficiera également de la législation relative aux accidents du travail et aux maladies professionnelles.

Article 13 : congés

Le doctorant contractuel bénéficie des congés prévus par les dispositions des articles 10, 11, 12, 13,14, 15, 16, 17, 18, 19, 19bis, 19ter, 20, 20bis, 21, 23, 25 et 26 du décret du 17 janvier 1986 susvisé.
Les congés annuels seront pris suivant les conditions de l'unité de recherche dans laquelle le doctorant contractuel exerce son activité de recherche mais le seront toujours pendant la durée du contrat.

Article 14 : conséquences de l'échéance du contrat

A l'issue de la période de trois ans, le doctorant contractuel cessera son activité sans que l'établissement ait à lui signifier un préavis. Il ne pourra prétendre à une indemnité de fin de contrat destinée à compenser la précarité de sa situation.
Le titulaire du présent contrat n'acquiert pas de droit à occuper ultérieurement un emploi dans l'établissement.

Article 15 : licenciement

En dehors des cas où il intervient pour raisons disciplinaires, le licenciement peut être prononcé à tout instant sous réserve de l'observation d'un préavis dont la durée est fixée par les dispositions de l'article 46 du décret du 17 janvier 1986 susvisé. Le licenciement ne peut intervenir qu'à l'issue d'un entretien préalable. La décision de licenciement est notifiée à l'intéressé par lettre recommandée avec demande d'avis de réception. Cette lettre précise le ou les motif(s) du licenciement et la date à laquelle celui-ci doit intervenir compte tenu des droits à congés annuels restant à courir et de la durée du préavis.

Article 16

Dans l'hypothèse où le/la doctorant(e) contractuel(le) effectue l'activité désignée à l'article 5 dans un établissement différent de celui qui l'emploie, une convention est conclue entre les deux établissements concernés. Cette convention est annexée au présent contrat.

Article 17

Le titulaire du présent contrat déclare avoir pris connaissance du décret du 23 avril 2009 susvisé.

Fait à Mont Saint Aignan
Le 20/09/2012

Le Contractant
Signature précédée de la mention « lu et approuvé »
Lu et approuvé

GUILLAUME COSTALAT

Le Président de l'Université de Rouen

CAFER ÖZKUL

PROCES-VERBAL D'INSTALLATION

Le soussigné, s'étant présenté devant nous, a été installé dans ses fonctions à la date du 01/10/2012.

Fait à Mont-Saint-Aignan, le 20/09/2012.

Signature de l'intéressé

Pour le Président,
Pour la Directrice Générale des Services,
Pour la Directrice des Ressources Humaines,
Et par délégation,
La Responsable du Bureau des Personnels Enseignants,

Catherine DELAMARE

Contrat en 5 ex : 1ex intéressé(e) : 1ex laboratoire ; 1 ex Recherche ; 1 ex Service Financier ; 1 ex DRH

UNIVERSITÉ DE ROUEN

Direction Générale des Services
Direction des Ressources Humaines
Bureau des Heures Complémentaires

AVENANT AU CONTRAT D'ENGAGEMENTEN QUALITE DE DOCTORANT CONTRACTUEL
ANNEE UNIVERSITAIRE 2013/2014

- Vu le code de la recherche, et notamment son article L. 412-2 ;
- Vu le code de la propriété intellectuelle articles L. 611-7 et R. 611-11 à R. 611-14 ;
- Vu le décret n°84-431 du 6 juin 1984 modifié fixant les dispositions statutaires communes applicables aux enseignants-chercheurs et portant statut particulier du corps des professeurs des universités et du corps des maîtres de conférence ;
- Vu le décret n°2009-464 du 23 avril 2009 relatif aux doctorants contractuels des établissements publics d'enseignement supérieur ou de recherche ;
- Vu le contrat de travail du 1er octobre 2009, article 4bis ;
- Vu l'arrêté du 23 avril 2009 fixant le montant de la rémunération du doctorant contractuel ;
- Vu la proposition du directeur de l'école doctorale ;
- Vu l'avis du directeur de thèse et du directeur de l'unité ou de l'équipe de recherche concernée ;
- Vu la décision du conseil scientifique de l'établissement employeur (le cas échéant si l'étudiant est dans la situation prévue au 2ème alinéa de l'article 3 du décret du 23 avril 2009).

Code gestion : A08076

Entre les soussignés,
Le Président de l'Université de Rouen, d'une part,
Et M. Guillaume COSTALAT d'autre part,
ci-après désigné « le doctorant contractuel ».

Il a été convenu ce qui suit :

Article 1er :

Conformément aux dispositions de l'article 4 du contrat, le doctorant contractuel accomplira, du 01/09/2013 au 31/08/2014, un service annuel qui comprendra, pour les cinq sixième de son temps de travail effectif, les activités de recherche liées à la préparation de son doctorat, et, pour un sixième de son temps de travail, l'activité suivante :

- Enseignement dans le cadre d'une équipe pédagogique, pour un service annuel au plus égal au tiers du service annuel d'enseignement de référence des enseignants-chercheurs, défini à l'article 7 du décret du 6 juin 1984 susvisé ;

Article 2 :

L'article 5 du contrat est modifié comme suit :
Le bénéficiaire du présent contrat perçoit, pour un travail à temps plein, une rémunération complémentaire mensuelle brute de 339.77€. Cette rémunération est indexée sur l'évolution des rémunérations de la fonction publique.

Fait à Mont Saint Aignan
Le 08/10/2013

Le Contractant	**Le Président de l'Université de Rouen**
Signature précédée de la mention « lu et approuvé »	
Le 17/10/13 lu et approuvé	
GUILLAUME COSTALAT	**CAFER ÖZKUL**

Figure 84 : Contrat Doctoral (2012-2015).

Article n°1

Eur J Appl Physiol
DOI 10.1007/s00421-013-2690-z

ORIGINAL ARTICLE

Hemodynamic adjustments during breath-holding in trained divers

Guillaume Costalat · Jeremy Coquart · Ingrid Castres · Claire Tourny · Frederic Lemaitre

Received: 13 February 2013 / Accepted: 25 June 2013
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2013

Abstract
Purpose Voluntary breath-holding (BH) elicits several hemodynamic changes, but little is known about maximal static immersed-body BH. We hypothesized that the diving reflex would be strengthened with body immersion and would spare more oxygen than maximal dry static BH, resulting in a longer BH duration.
Methods Eleven trained breath-hold divers (BHDs) performed a maximal dry-body BH and a maximal immersed-body BH. Cardiac output (CO), stroke volume (SV), heart rate (HR), left ventricular end-diastolic volume (LVEDV), contractility index (CTI), and ventricular ejection time (VET) were continuously recorded by bio-impedancemetry (PhysioFlow PF-05). Arterial oxygen saturation (SaO_2) was assessed with a finger probe oximeter.
Results In both conditions, BHDs presented a bi-phasic kinetic for CO and a tri-phasic kinetic for SV and HR. In the first phase of immersed-body BH and dry-body BH, results (mean ± SD) expressed as percentage changes from starting values showed decreased CO (55.9 ± 10.4 vs. 39.3 ± 16.8 %, respectively; $p < 0.01$ between conditions), due to drops in both SV (24.9 ± 16.2 vs. 9.0 ± 8.5 %, respectively; $p < 0.05$ between conditions) and HR (39.7 ± 16.7 vs. 33.6 ± 17.0 %, respectively; $p < 0.01$ between conditions). The second phase was marked by an overall stabilization of hemodynamic variables. In the third one, CO kept stabilizing due to increased SV (17.0 ± 20.2 vs. 10.9 ± 13.8 %, respectively; $p < 0.05$ between conditions) associated with a second HR drop (14.0 ± 10.0 vs. 12.7 ± 8.9 %, respectively; $p < 0.01$ between conditions).
Conclusion This study highlights similar time-course patterns for cardiodynamic variables during dry-body and immersed-body BH, although the phenomenon was more pronounced in the latter condition.

Keywords Diving reflex · Water immersion · Kinetics · Hemodynamic · Breath-holding

Introduction

The human physiological response to breath-holding (BH) is called the "diving reflex" and the main effects are bradycardia, decreased cardiac output, and increased arterial blood pressure (Foster and Sheel 2005). Bradycardia is induced by increased vagal activity, whereas the peripheral vasoconstriction of selected vascular beds is linked to increased sympathetic discharge (Fagius and Sundlöf 1986). Recent studies have included splenic contraction, which occurs at the early stage of BH, as part of the diving reflex (Palada et al. 2007a). In the human species, the diving reflex is triggered by BH and accentuated by face immersion (Andersson et al. 2000). These mechanisms slow the depletion of lung oxygen stores through an oxygen-conserving effect, thereby reducing overall O_2 uptake (Andersson et al. 2008). Although most studies on human diving physiology deal with the cardiovascular results of BH performed in laboratory conditions, i.e., dry static BH or simulated dynamic BH with face immersion (Palada et al. 2007b; Heusser et al. 2009; Tocco et al. 2012a), a few recent studies have confirmed these phenomena in real

Communicated by Dag Linnarsson.

G. Costalat (✉) · J. Coquart · I. Castres · C. Tourny · F. Lemaitre
CETAPS, EA No. 3832, Faculté des Sciences du Sport, Boulevard Siegfried, Université de Rouen, 76130 Mont-Saint-Aignan, France
e-mail: guillaume.costalat1@univ-rouen.fr

Published online: 03 July 2013

conditions. These studies have shown a significant decrease in cardiac output (CO) due to reductions in both heart rate (HR) and stroke volume (SV) during deep static BH (Marabotti et al. 2009; Tocco et al. 2012b). However, these investigations did not focus on the time courses of the cardiodynamic variables during BH and the hemodynamic data were recorded only over short periods (respectively, 1 and 3 min), which does not reflect the real hemodynamic changes during a maximal static BH performed in competition.

The purpose of this investigation was to describe the hemodynamic and arterial oxygen saturation (SaO_2) changes during maximal static BH both in air and in immersion. We hypothesized that the magnitude of the diving reflex (hemodynamic parameters) would be more pronounced in immersion than in air. Therefore, a more pronounced diving response during static BH with body immersion (head-in) was expected to spare more oxygen than during dry BH, explaining a longer duration of BH.

Materials and methods

Subjects

The study was performed on 11 healthy active breath-hold divers (BHDs; 10 males and 1 female). The presence of a single female subject was fortuitous, and a recent article concluded that males and females have similar diving responses (Tocco et al. 2012a). All participants were informed about the objectives and procedures of the study, and all gave written consent prior to the start of the experiment. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and was approved by the local research ethics committee.

Experimental design

Each subject performed two maximal voluntary static BH, as they would do while training, in two experimental conditions. The first BH was carried out in air and the second was performed at water surface in a fully-immersed condition (head-in). Dry-body BH and immersed-body BH were conducted in the same session with at least 4 h between each one and were preceded by a 15 min rest period. During the first rest period (in air), the subjects relaxed in supine position on a mattress and data such as systolic and diastolic blood pressure, calibration of hemodynamic parameters and baseline values were recorded. After dry-body BH and before entering the water, the subjects put on wet suits, diving masks and snorkels. Before starting immersed-body BH, the subjects assumed the prone position and breathed through the snorkel with their heads submersed in water while baseline data were recorded underwater. Prior to starting BH, BHDs were asked for their expected BH duration. In both conditions, BHDs followed a countdown process similar to that of BH competitions, i.e., countdown signals were given with the following timing (seconds): 120, 90, 30 then every second for the last 10 s prior to starting. After 2.5 min into BH, the subjects were notified of the elapsed time every 30 s. The subjects were instructed to keep their chest relaxed and to perform BH without prior hyperventilation. Ambient air and pool water temperature were, respectively, 26 and 27 °C.

Arterial oxygen saturation and hemodynamic measurements

SaO_2 was assessed by fingertip pulse oximetry (PalmSat 2500, Nonin Medical, Inc., USA). Contractility index (CTI), ventricular ejection time (VET), left ventricular end-diastolic volume (LVEDV), CO, SV and HR were estimated by bio-impedancemetry (PhysioFlow PF-05, Manatec Biomedical, France), a non-invasive method commonly used nowadays to determine cardiodynamic parameters at rest (Charloux et al. 2000; Tonelli et al. 2011) and during exercise (Tordi et al. 2004; Welsman et al. 2005). The PhysioFlow methodology has been described in detail elsewhere (Richard et al. 2001). Briefly, the bio-impedance method for determining CO uses transthoracic impedance changes (dZ) in response to an electrical current administered during cardiac ejection to calculate SV. After shaving and applying a mildly abrasive gel (NuPrep) to the skin, two sets of electrodes are applied above the supraclavicular fossa (left side) and along the xiphoid process of each subject. Another pair of electrodes is used to measure a single electrocardiogram signal (ECG). After a calibration over 30 heart beats, CO is then continuously calculated (beat-to-beat) by multiplying the stroke volume index (SVi) with the body surface area (BSA) and HR, which is obtained from the R–R interval determined on the ECG first derivative:

$$\mathrm{CO}\ (\mathrm{l\ min^{-1}}) = \mathrm{HR}\ (\mathrm{beats\ min^{-1}}) \times \mathrm{SVi}\ (\mathrm{ml\ m^{-2}}) \times \mathrm{BSA}\ (\mathrm{m^2})$$

The mean systolic ejection rate (SV/VET ratio, MSER) was calculated, a parameter considered as an index of myocardial performance (Concu and Marcello 1993).

Particular precautions were taken while recording the hemodynamic data underwater to preserve the impedance signal, i.e., the electrode contact with the skin was protected from water by adhesive films (Tegaderm™) and the wetsuits worn by the subjects. Upon completion of the recording, the ICG and impedance waveform (the "drums and saxophone" criteria) were verified according to the designers' recommendations for this impedance-based

device (Bour and Kellett 2008). Before starting the whole experiment, the quality of the impedance signal was checked on a subject in true experimental condition and no sign of moistened electrodes was noted. The same experimenter used this device and performed the hemodynamic recording throughout the study.

Data analysis

The baseline values were calculated for each variable as the average value over a 5 min period in both rest conditions. Throughout BH, the average values of CO, SV and HR were calculated over 3–5 heart beats for every 20 s. SaO_2 was also averaged every 20 s. The mean value over 3–5 heartbeats at the beginning of BH was used as starting value for each variable as well as reference value for each hemodynamic change during BH (represented by the 100 % time points values on Fig. 1). Because of both hemodynamic variations induced by body immersion and inter-individual variance, we chose to normalize the data using the percentage change from the starting value for each BH as follows:

$$\text{relative hemodynamic change } (\%) = \frac{\text{absolute hemodynamic value}}{\text{absolute hemodynamic starting value}} \times 100$$

All samples were first tested for normality distribution with the Shapiro–Wilk test. Because of the latter test failure, Friedman's non-parametric test was used to compare the time courses of CO, SV, HR and SaO_2 for each condition. Either Student's paired *t* test or Wilcoxon's tests were used to compare each value with the next, depending on the hemodynamic data distribution of each time point. In a similar manner, Student's paired *t* test or Wilcoxon's test were used to do a point-to-point comparison between dry-body and immersed-body results. Spearman or Pearson correlations were performed to assess the relationships between BH times, years of BH practice and the hemodynamic data, depending on the data distribution. For the sake of clarity, the results shown in the figure are expressed as the mean value ±SE, whereas the results in tables and the text are expressed as the mean value ±SD. Statistical analysis and graphs were performed using Sigma Plot software version 12.3 (SPSS, Chicago, USA) and a *p*-value <0.05 was considered statistically significant.

Results

The cumulative years of BH practice, time spent in BH training per week, personal best performance in static BH, and anthropometric data of BHDs are shown in Table 1. The BH duration was longer in immersed-body BH than in dry-body BH (267 ± 21.9 vs. 229 ± 12.3 s, $p < 0.05$). Baseline and BH starting values for both conditions are presented in Table 2. The Friedman analysis for the time course of hemodynamic changes showed a decrease in CO, SV HR and SaO_2 in both immersed-body and dry-body BH from their respective BH starting values (Fig. 1). More specifically, CO, SV and HR showed a drop in the early stage (1 min) for both BH conditions (Fig. 1a–c). Furthermore, HR again decreased when BH was 55–60 % completed (time-wise) and kept sliding until completion of BH (Fig. 1c). SV was the only parameter that increased in the last phase of BH whether in immersed-body BH (17.0 ± 20.2 %, $p < 0.05$ vs. at 140 s time point) or dry-body BH (10.9 ± 13.8 %, $p < 0.05$ vs. at 140 s time point; Fig. 1b). CO in immersed-body BH reached percentage lower than in dry-body BH (55.9 ± 10.4 vs. 39.3 ± 16.8 %, respectively; $p < 0.01$ between conditions) and HR (first drop 39.7 ± 16.7 vs. 33.6 ± 17.0 %, respectively $p < 0.01$ between conditions; second drop: 14.0 ± 10.0 vs. 12.7 ± 8.9 %, respectively, $p < 0.01$ between conditions; Fig. 1a, c). In both immersed-body BH and dry-body BH, mean SaO_2 decreased (7.9 ± 2.3 vs. 5.0 ± 1.4 %, respectively; $p < 0.01$ between conditions), although no difference in SaO_2 was found between conditions regardless of the BH time point (except at the end of BH, Fig. 1d). From the beginning to 55–60 % of BH duration, LVEDV decreased in immersed-body BH (6.8 ± 10.3 %, $p < 0.05$ vs. starting values) and dry-body BH (7.2 ± 8.7 %, $p < 0.05$ vs. starting values) and then increased from 55–60 % to the end of BH in immersed-body BH (8.9 ± 12.3 %, $p < 0.05$ vs. at 140 s time point) and dry-body BH (11.0 ± 9.0 %, $p < 0.05$ vs. at 140 s time point). No difference was found in VET. CTI and MSER decreased only in immersed-body BH (45.3 ± 49.4 %; $p < 0.05$ and 17.5 ± 7.4 %, respectively; $p < 0.01$ vs. baseline values). No correlation was found between BH times, years of apnea practice and hemodynamic data.

Discussion

The main finding of the present study was that BHDs showed a bi-phasic time course of CO associated with a tri-phasic time course of SV and HR while BH. The first phase presented a fast and pronounced decrease in all hemodynamic parameters followed by a second one whose main feature was an overall hemodynamic stabilization. The third kinetic phase (55–60 % of BH time) showed a second bradycardia associated with an increase in SV, which resulted in the continuation of the current CO stabilization. This kinetic was very similar in the two conditions and

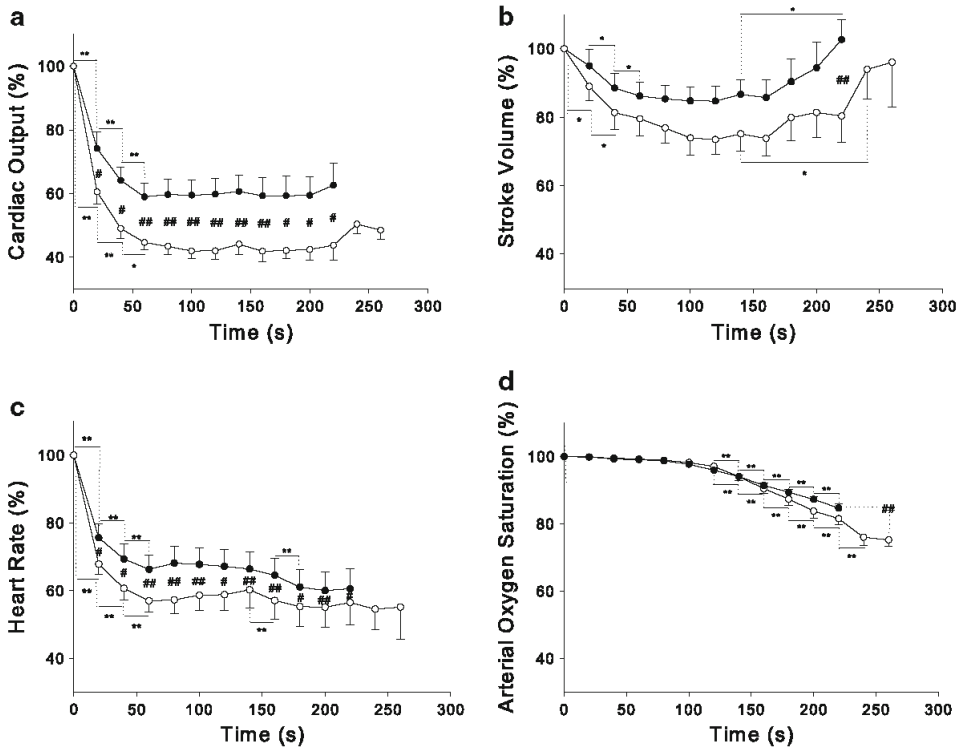


Fig. 1 **a–d** Cardiac output, stroke volume, heart rate and arterial oxygen saturation time course in dry-body breath-holding and immersed-body breath-holding. Values are mean ± SE percentage from the starting values of breath-holding. $*p < 0.05$; $**p < 0.01$ versus precedent time point; $^{\#}p < 0.05$; $^{\#\#}p < 0.01$ versus corresponding time point of the other condition. *Filled circles* dry-body BH, *empty circles* immersed-body BH

Table 1 Anthropometric data of breath-hold divers (BHDs)

	$n = 11$
Age (years)	36.0 ± 9.6
Height (cm)	175.7 ± 4.2
Body mass (kg)	71.2 ± 8.9
Body fat mass (%)	19.9 ± 6.0
YAP	7.3 ± 5.6
BH training (h wk ^{1})	3.8 ± 1.13
PB (s)	316 ± 40

Values are mean ± SD

BH breath-holding, *YAP* years of apnea practice, *PB* personal best static BH performance

occurred at almost the same absolute time of BH although it was stronger in underwater BH. Similar bi-phasic and tri-phasic time courses have been reported in elite BHDs, but most of the previous studies focused mainly on HR and/or arterial blood pressure (Lemaître et al. 2008; Perini et al. 2008; Perini et al. 2010).

In this investigation, the hemodynamic results revealed a fast drop in CO during the initial phase of BH in both conditions as a result of decreased SV and HR. Despite the bradycardic response is variable among individuals, both time courses and magnitudes of the first bradycardia are within the range reported in other investigations (Caspers et al. 2011; Alboni et al. 2011). In studies with similar immersion conditions, Tocco et al. (2012a) also highlight a drop in CO, whereas Marabotti et al. (2009) did not. From a physiological standpoint, the greatest effect of BH on cardiac kinetics seems to be the increased (positive) intrathoracic pressure (ITP) (Ferrigno et al. 1986; Ley et al. 2006). Indeed, Ferrigno et al. found a (24 %) decrease in the cardiac index as a consequence of increased ITP during BH when performed at large lung volume. In healthy humans, the increased ITP displaces the central blood volume into the peripheral capillary beds, i.e., a decrease in venous return, resulting in reduced transmural end-diastolic pressures, LVEDV and therefore SV (Tyberg et al. 2000). In our study, we indirectly confirmed this phenomenon in

Table 2 Baseline and starting BH hemodynamic data in both conditions (absolute values)

conditions	HR (bpm)	SV (ml)	CO (l min ^{1})	SaO_2 (%)	VET (ms)	CTI	MSER (ml s ^{1})	MBP (mmHg)	SVR (dyne s cm ^{5})
DA									
Baseline values	64 ± 7	95 ± 14	6.0 ± 0.7	99 ± 1	282.0 ± 17.9	215.2 ± 74.2	339.2 ± 58.2	91.6 ± 7.3	1229.0 ± 148.5
Starting BH values	96 ± 8*	97 ± 14	9.5 ± 1.8*	99 ± 0.5					
WI									
Baseline values	71 ± 10	86 ± 12	6.1 ± 0.9	99 ± 1	252.8 ± 36.6	212.9 ± 85.4	348.0 ± 89.1		
Starting BH values	98 ± 12*	96 ± 14	9.4 ± 1.4*	99 ± 0.5					

Values are mean ± SD

DA dry ambient, *WI* water immersion, *HR* heart rate, *SV* stroke volume, *CO* cardiac output, SaO_2 arterial oxygen saturation, *VET* ventricular ejection time, *CTI* contractility index, *MSER (SV/VET ratio)* mean systolic ejection rate, *MBP* mean blood pressure, *SVR* systemic vascular resistance

* $p < 0.001$ versus corresponding baseline value

both conditions by showing a decrease in LVEDV (from 0 to 55–60 % BH time), a parameter which provides a good estimate for preload and thus SV, according to the Frank–Starling law.

In the last stage of BH, the hemodynamic kinetics revealed that CO kept stabilizing due to a second decrease in HR and an increased SV. The SV increase was confirmed in our study with an increase in LVEDV from 55–60 to 100 % of BH time. The hemodynamic kinetic showed that the onset at which the second decrease in HR and the concurrent rise in SV occurred is similar to the time reported for changes in oxygen and carbon dioxide concentration, i.e., the physiological break point, thus eliciting chemoreflex activation (Lin et al. 1974; Breskovic et al. 2012). Although diaphragmatic contractions were not recorded, we hypothesized that the increased SV corresponded to the "struggle phase", thus involving progressive involuntary breathing movements (IBMs) (Hentsch and Ulmer 1984). Our results are in agreement with a recent study which reported a rise in SV up to 90 % of its starting value at the end of BH, to carry on cerebral perfusion (Dujic et al. 2009). The authors reported that IBMs are involved in the decreased (negative) ITP, thereby leading to an increase in venous return, and thus SV, which normalizes CO.

The present study also demonstrated that immersed-body BH elicited a more powerful diving response compared with dry-body BH. This is in agreement with earlier studies (Schagatay et al. 2007; de Bruijn et al. 2009), but these investigations were performed in simulated conditions and none of them reported the time courses on SV and CO kinetics. In addition, our impedance-based data showing a decrease in both MSER and CTI (only in immersed-body BH) further highlight this phenomenon, implying reduced myocardial work. It should be noted that the short-term body immersion in moderately cold water haven't elicited any cardiovascular changes in both baseline and starting values. According to our data, the diving reflex magnitude is mainly related to the HR drop, as no difference was found in SV between respective time points in the two conditions (except at the end of BH time, Fig. 1b). The amplification of this "diving bradycardia" results from the synergistic effect of BH-induced respiratory arrest and face immersion, an effect that is greater than the sum of each individual response (Marsh et al. 1995). It is now accepted that the diving reflex is strengthened by face immersion (forehead, periorbital and nasal region) via the trigeminus nerve (Schaller et al. 2009), since strong links remain between the trigemino-cardiac reflex and the diving reflex (Cornelius et al. 2010). Our study reported significant hemodynamic changes in BHDs between dry-body BH and immersed-body BH at a water temperature above 20 °C. It should be noted that this additional effect of face immersion at a fairly similar water temperature has not been reported in previous studies in non-divers (Jay and White 2006; Jay et al. 2007). However, SaO_2 showed no difference between the two conditions when each relative time point was compared (except at the end of BH due to a longer immersed-BH duration). These results were unexpected and in disagreement with our initial hypothesis and the findings of a study performed at rest in a simulated condition (Andersson et al. 2008). Indeed, our results showed a longer immersed-body BH time and a more pronounced diving reflex throughout an immersed-BH without any change in SaO_2, while it has been shown than the oxygen-sparing effect appears to be proportional to the degree of the bradycardia (Lindholm and Lundgren 2009).

A number of limitations have to be considered in this study. The main one is the lack of continuous arterial blood pressure recording and subsequent lack of information on baroreflex activity and systemic peripheral resistance while in BH. One could also question the impedance-based method we used to track changes in the hemodynamic parameters. Early impedance-based devices lacked validity as they were based on basal thoracic impedance, a measure of chest resistance that varies with thoracic morphology, the homogeneity of thorax perfusion, electrode placement, perspiration, subcutaneous adiposity and electrical contact (Charloux et al. 2000). Nowadays, more current impedance devices such as the PhysioFlow are baseline-independent, which facilitates underwater recording. To our knowledge, this is the first study to report underwater hemodynamic time courses while BH with a new-generation impedance-based device. A study using the same device reported an overestimation of CO in patients with chronic obstructive pulmonary disease compared with the direct Fick method (Bougault et al. 2005). The authors hypothesized that changes in ITP, pulmonary vascular flows and dynamic hyperinflation may have modified the first mathematical derivative of the impedance signal. Thus, because of the physiological similitudes induced by BH, only relative hemodynamic changes were considered, to avoid possible bias.

In conclusion, the results of this study highlight similar time-course patterns for cardiodynamic variables in maximal dry-body BH and immersed-body BH. This analogous diving reflex kinetic was nevertheless more pronounced when BH was performed in the fully-immersed condition. Whole body immersion, and mainly face immersion, seems to have an important role in the magnitude of the diving reflex, but not in the kinetics.

Acknowledgments The investigators would like to thank the divers for their enthusiastic participation in this study and Frank Bour for his technical assistance with the PhysioFlow PF-05 device. We also thank Catherine Carmeni for help in preparing the manuscript. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and was approved by the local research ethics committee.

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

References

Alboni P, Alboni M, Gianfranchi L (2011) Diving bradycardia: a mechanism of defence against hypoxic damage. J Cardiovasc Med 12(6):422–427

Andersson J, Schagatay E, Gislen A, Holm B (2000) Cardiovascular responses to cold-water immersions of the forearm and face, and their relationship to apnoea. Eur J Appl Physiol 83(6):566–572

Andersson JPA, Biasoletto-Tjellström G, Schagatay EKA (2008) Pulmonary gas exchange is reduced by the cardiovascular diving response in resting humans. Respir Physiol Neurobiol 160(3):320–324. doi:10.1016/j.resp.2007.10.016

Bougault V, Lonsdorfer-Wolf E, Charloux A, Richard R, Geny B, Oswald-Mammosser M (2005) Does thoracic bioimpedance accurately determine cardiac output in COPD patients during maximal or intermittent exercise? Chest 127:1122–1131. doi:10.1378/chest.127.4.1122

Bour J, Kellett J (2008) Impedance cardiography — A rapid and cost-effective screening tool for cardiac disease. Eur J Intern Med 19(6):399–405. doi:10.1016/j.ejim.2007.07.007

Breskovic T, Lojpur M, Maslov PZ, Cross TJ, Kraljevic J, Ljubkovic M, Marinovic J, Ivancev V, Johnson BD, Dujic Z (2012) The influence of varying inspired fractions of O_2 and CO_2 on the development of involuntary breathing movements during maximal apnoea. Respir Physiol Neurobiol 181(2):228–233

Caspers C, Cleveland S, Schipke JD (2011) Diving reflex: can the time course of heart rate reduction be quantified? Scand J Med Sci Sports 21(1):18–31

Charloux A, Lonsdorfer-Wolf E, Richard R, Lampert E, Oswald-Mammosser M, Mettauer B, Geny B, Lonsdorfer J (2000) A new impedance cardiograph device for the non-invasive evaluation of cardiac output at rest and during exercise: comparison with the "direct" Fick method. Eur J Appl Physiol 82:313–320. doi:10.1007/s004210000226

Concu A, Marcello C (1993) Stroke volume response to progressive exercise in athletes engaged in different types of training. Eur J Appl Physiol Occup Physiol 66(1):11–17

Cornelius JF, Sadr-Eshkevari P, Arasho BD, Sandu N, Spiriev T, Lemaitre F, Schaller B (2010) The trigemino-cardiac reflex in adults: own experience. Expert Rev Cardiovasc Ther 8(7):895–898. doi:10.1586/erc.10.74

de Bruijn R, Richardson M, Schagatay E (2009) Oxygen-conserving effect of the diving response in the immersed human. Diving Hyperb Med 39(4):193–199

Dujic Z, Uglesic L, Breskovic T, Valic Z, Heusser K, Marinovic J, Ljubkovic M, Palada I (2009) Involuntary breathing movements improve cerebral oxygenation during apnea struggle phase in elite divers. J Appl Physiol 107(6):1840–1846

Fagius J, Sundlöf G (1986) The diving response in man: effects on sympathetic activity in muscle and skin nerve fascicles. J Physiol 377(1):429–443

Ferrigno M, Hickey DD, Liner MH, Lundgren CE (1986) Cardiac performance in humans during breath holding. J Appl Physiol 60(6):1871–1877

Foster GE, Sheel AW (2005) The human diving response, its function, and its control. Scand J Med Sci Sports 15(1):3–12

Hentsch U, Ulmer HV (1984) Trainability of underwater breath-holding time. Int J Sports Med 5(6):343–347

Heusser K, Dzamonja G, Tank J, Palada I, Valic Z, Bakovic D, Obad A, Ivancev V, Breskovic T, Diedrich A, Joyner MJ, Luft FC, Jordan J, Dujic Z (2009) Cardiovascular regulation during apnea in elite divers. Hypertension 53(4):719–724. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.127530

Jay O, White MD (2006) Maximum effort breath-hold times for males and females of similar pulmonary capacities during sudden face-only immersion at water temperatures from 0 to 33 degrees C. Appl Physiol Nutr Metab 31(5):549–556

Jay O, Christensen JP, White MD (2007) Human face-only immersion in cold water reduces maximal apnoeic times and stimulates ventilation. Exp Physiol 92(1):197–206

Lemaître F, Buchheit M, Joulia F, Fontanari P, Tourny-Chollet C (2008) Static apnea effect on heart rate and its variability in elite breath-hold divers. Aviat Space Environ Med 79(2):99–104. doi:10.3357/asem.2142.2008

Ley S, Fink C, Puderbach M, Zaporozhan J, Plathow C, Eichinger M, Hosch W, Kreitner K-F, Kauczor H-U (2006) MRI measurement of the hemodynamics of the pulmonary and systemic arterial circulation: influence of breathing maneuvers. Am J Roentgenol 187(2):439–444. doi:10.2214/ajr.04.1738

Lin YC, Lally DA, Moore TO, Hong SK (1974) Physiological and conventional breath-hold breaking points. J Appl Physiol 37(3):291–296

Lindholm P, Lundgren CE (2009) The physiology and pathophysiology of human breath-hold diving. J Appl Physiol 106(1): 284–292

Marabotti C, Scalzini A, Cialoni D, Passera M, L'Abbate A, Bedini R (2009) Cardiac changes induced by immersion and breath-hold diving in humans. J Appl Physiol (Bethesda, Md: 1985) 106:293–297. doi:10.1152/japplphysiol.00126.2008

Marsh N, Askew D, Beer K, Gerke M, Muller D, Reichman C (1995) Relative contributions of voluntary apnoea, exposure to cold and face immersion in water to diving bradycardia in humans. Clin Exp Pharmacol Physiol 22(11):886–887

Palada I, Eterović D, Obad A, Bakovic D, Valic Z, Ivancev V, Lojpur M, Shoemaker JK, Dujic Z (2007a) Spleen and cardiovascular function during short apneas in divers. J Appl Physiol 103(6):1958–1963. doi:10.1152/japplphysiol.00182.2007

Palada I, Obad A, Bakovic D, Valic Z, Ivancev V, Dujic Z (2007b) Cerebral and peripheral hemodynamics and oxygenation during maximal dry breath-holds. Respir Physiol Neurobiol 157: 374–381. doi:10.1016/j.resp.2007.02.002

Perini R, Tironi A, Gheza A, Butti F, Moia C, Ferretti G (2008) Heart rate and blood pressure time courses during prolonged dry apnoea in breath-hold divers. Eur J Appl Physiol 104(1):1–7

Perini R, Gheza A, Moia C, Sponsiello N, Ferretti G (2010) Cardiovascular time courses during prolonged immersed static apnoea. Eur J Appl Physiol 110(2):277–283

Richard R, Lonsdorfer-Wolf E, Charloux A (2001) Non-invasive cardiac output evaluation during a maximal progressive exercise test, using a new impedance cardiograph device. Eur J 85(3–4): 202–207

Schagatay E, Andersson JP, Nielsen B (2007) Hematological response and diving response during apnea and apnea with face immersion. Eur J Appl Physiol 101(1):125–132

Schaller B, Cornelius JF, Prabhakar H, Koerbel A, Gnanalingham K, Sandu N, Ottaviani G, Filis A, Buchfelder M (2009) The trigemino-cardiac reflex: an update of the current knowledge. J Neurosurg Anesthesiol 21(3):187–195

Tocco F, Crisafulli A, Melis F, Porru C, Pittau G, Milia R, Concu A (2012a) Cardiovascular adjustments in breath-hold diving: comparison between divers and non-divers in simulated dynamic apnoea. Eur J Appl Physiol 112(2):543–554

Tocco F, Marongiu E, Pinna M, Roberto S, Pusceddu M, Angius L, Migliaccio G, Milia R, Concu A, Crisafulli A (2012b) Assessment of circulatory adjustments during underwater apnoea in elite divers by means of a portable device. Acta Physiol 14(10):12000

Tonelli AR, Alnuaimat H, Li N, Carrie R, Mubarak KK (2011) Value of impedance cardiography in patients studied for pulmonary hypertension. Lung 189:369–375. doi:10.1007/s00408-011-9299-y

Tordi N, Mourot L, Matusheski B, Hughson RL (2004) Measurements of cardiac output during constant exercises: comparison of two non-invasive techniques. Int J Sports Med 25:145–149. doi: 10.1055/s-2004-819949

Tyberg JV, Grant DA, Kingma I, Moore TD, Sun Y-H, Smith ER, Belenkie I (2000) Effects of positive intrathoracic pressure on pulmonary and systemic hemodynamics. Res physiol 119(2–3):171–179. doi:10.1016/S0034-5687(99)00112-7

Welsman J, Bywater K, Farr C, Welford D, Armstrong N (2005) Reliability of peak VO(2) and maximal cardiac output assessed using thoracic bioimpedance in children. Eur J Appl Physiol 94:228–234. doi:10.1007/s00421-004-1300-5

Article n°2

Eur J Appl Physiol
DOI 10.1007/s00421-015-3129-5

ORIGINAL ARTICLE

Modeling the diving bradycardia: Toward an "oxygen-conserving breaking point"?

Guillaume Costalat · Aurélien Pichon · Fabrice Joulia · Frédéric Lemaître

Received: 13 October 2014 / Accepted: 9 February 2015
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015

Abstract
Purpose Although it has been demonstrated that the exponential decay model fits the heart rate (HR) kinetics in short static breath holding (BH), this model might be inaccurate when BH is maintained for several minutes. The aim of this study was to build a new meaningful model to quantify HR kinetics during prolonged static BH.
Methods Nonlinear regression analysis was used to build a model able to quantify the beat-to-beat HR reduction kinetics observed in prolonged static BH performed both in air and in immersed condition by 11 trained breath-hold divers. Dynamic changes in cardiac autonomic regulation through heart rate variability indices [root mean square of successive difference of R–R intervals (RMSSD); short-term fractal scaling exponent: (DFAα1)] and peripheral oxygen saturation (SpO_2) were also analyzed to strengthen the model.
Results The tri-phasic model showed a sharp exponential drop in HR immediately followed by a slight linear rise up until a breaking point preceding a linear drop in HR. The breaking points had similar level of SpO_2 whether in air or in immersed condition (95.1 ± 2.1 vs. 95.2 ± 3.0 %, respectively; $P = 0.49$), and the subsequent linear drop in HR was concomitant with a shift in cardiac autonomic regulation in air (RMSSD: +109.0 ± 47.8 %; $P < 0.001$; DFAα1: −18.0 ± 17.4 %; $P < 0.05$) and in immersion (RMSSD: +112.6 ± 55.8 %; $P < 0.001$; DFAα1: −26.0 ± 12 %; $P < 0.001$).
Conclusion In addition to accurately fitting the HR kinetics, the most striking finding is an "oxygen-conserving breaking point" highlighted by the model, which might be interpreted as unique adaptive feature against hypoxic damages in the human diving bradycardia.

Keywords Diving bradycardia · Cardiac autonomic regulation · Regression-based model

Abbreviations

A	Theoretical amplitude of the exponential decay
$A_{\%HR}$	Actual amplitude of the exponential decay
AIC	Akaike's information criterion
B	Slope of the linear increase in heart rate
BH	Breath holding
BHDs	Breath-hold divers
C	Slope of the linear decrease in heart rate
χ^2_{red}	Reduced Chi-squared
DFAα1	Short-term fractal scaling exponent
ECG	Electrocardiogram
HR	Heart rate
%HR (t)	Relative heart rate change at any given time t
HR_{max}	Heart rate peak
τ	Time constant of the exponential decay
HRV	Heart rate variability
O_{2bp}	"Oxygen-conserving breaking point"

Communicated by Carsten Lundby.

G. Costalat (✉) · F. Lemaître
CETAPS Laboratory, EA no 3832, Faculté des Sciences du Sport, Boulevard Siegfried, Normandie University, Mont Saint-Aignan, France
e-mail: guillaume.costalat1@univ-rouen.fr

A. Pichon
Sorbonne Paris Cité, Laboratory "Hypoxia and Lung", EA no 2363, Paris 13 University, Bobigny, France

F. Joulia
Faculty of Medicine, UMR MD2, Aix Marseille University and IRBA, Marseille, France

F. Joulia
Toulon University, La Garde, France

Published online: 18 February 2015

R^2	Coefficient of determination
R^2_{adj}	Adjusted coefficient of determination
RMSE	Root mean squared errors
RMSSD	Root mean square of successive difference of R–R intervals
SpO_2	Peripheral oxygen saturation
SS_R	Sum of squared residuals
T_{min}	Time at which the minimum value of the exponential decay occurs

Introduction

Human physiological response to static breath holding (BH) is called the diving response, and its main effects are bradycardia, decreased cardiac output, peripheral vasoconstriction and increased arterial blood pressure (Lindholm and Lundgren 2009; Heusser et al. 2009; Marabotti et al. 2008). Indeed, its primary goal is to save oxygen stores (i.e., the oxygen-conserving effect) toward hypoxia-sensitive tissues such as brain and heart (Joulia et al. 2009; Lindholm and Lundgren 2009). In healthy humans, these protective mechanisms against hypoxic damages are initially triggered by BH per se (Schuitema and Holm 1988; Perini et al. 2008) and strengthened by face immersion (Andersson et al. 2000) as well as whole-body immersion (Costalat et al. 2013; Marabotti et al. 2013).

It has recently been demonstrated that heart rate (HR) kinetics in response to short static BH (<60 s) displayed a diving bradycardia that decreased exponentially with and without face immersion (Caspers et al. 2011). The diving response is considered so far as one of the most powerful autonomic reflexes in humans (Schaller 2004; Cornelius et al. 2010); consequently, authors of this meta-analysis claimed that BH-induced bradycardia might be considered as a clinical tool to assess the integrity of cardiac autonomic pathways. However, their proposed exponential model (i.e., a mono-phasic model) could be not sufficient to accurately quantify the kinetics of the diving bradycardia when static BH is maintained for several minutes. Indeed, in both trained and elite breath-hold divers (BHDs), visual inspection of the diving bradycardia kinetics has shown to further decrease in the latter hypoxic stage of prolonged BH, likely due to the activation of both baroreflex and chemoreflex (Perini et al. 2008; Lemaître et al. 2008). To our knowledge, no study to date has used nonlinear regression analysis to describe the time course of HR reduction during prolonged BH.

Therefore, the purpose of this investigation was to quantify, using a nonlinear regression model, the beat-to-beat time course of heart rate (HR) reduction during maximal static BH in trained BHDs. Dynamic changes in cardiac autonomic regulation were also investigated through linear and nonlinear analysis of heart rate variability (HRV) analysis as well as peripheral oxygen saturation (SpO_2) to strengthen the physiological meaningfulness of the model. Maximal static BH was performed both in laboratory (i.e., dry-body BH) and in real environment condition (i.e., immersed-body BH at water surface) to raise the validity and the credibility of the model. We hypothesized that a tri-phasic model would be more accurate to quantify the bradycardic response and would be more meaningful from a physiological standpoint than the mono-phasic model when BH is prolonged for several minutes.

Materials and methods

Subjects

Regression-based modeling of HR kinetics and HRV analysis were performed on 11 healthy active BHDs (10 males and 1 female; age, 36.0 ± 9.6 years; height, 175.7 ± 4.2 cm; body mass, 71.2 ± 8.9 kg). The presence of a single female was fortuitous, and a recent article concluded that males and females have similar diving responses (Tocco et al. 2012). Their personal static BH performance was 316 ± 40 s. All participants were informed about the objectives and procedures of the study, and all gave written consent prior to the start of the experiment. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and was approved by the local research ethics committee.

Experimental design

Each subject performed two maximal voluntary static BH, as during their training, in two experimental conditions. The first BH was carried out in air and the second was performed during submersion at water surface (head-in). Dry-body BH and immersed-body BH were conducted in the same session with at least 4 h between each one and were preceded by a 15-min rest period. During rest periods, BHDs were asked to remain quiet. Before entering the water, the subjects put on wet suits, diving masks and snorkels. Before starting immersed-body BH, all subjects assumed the prone position at the surface of the water and breathed through the snorkel with their heads submersed in water. BHDs were also instructed to keep their chest relaxed and to perform BH without prior hyperventilation. Ambient air and pool water temperature were, respectively, 26 and 27 °C.

R–R recording and peripheral oxygen saturation measurements

SpO_2 was assessed by fingertip pulse oximetry (Palm-Sat 2500, Nonin Medical, Inc., USA). Beat-to-beat R–R

intervals were continuously recorded by means of a two-lead ECG system included in the PhysioFlow PF-05 device (Manatec Biomedical, France) whose sampling rate recording is 250 Hz (i.e., a temporal resolution of 4 ms). This sampling rate recording has already been used to record the diving bradycardia during both static and dynamic BH (Kiviniemi et al. 2012). A MATLAB-based package provided by the PhysioFlow's designers was applied to extract ECG recording of each subject. Then, R-wave peaks from ECG signal were detected by a digital filtering method implemented in Kubios HRV 2.1 software (Biomedical Signal Analysis Group, Department of Applied Physics, University of Kuopio, Finland), based on Pan–Tompkins algorithm (Pan and Tompkins 1985).

Careful attention has been paid to the detection of occasional physiological artifacts such as ectopic beats (i.e., premature beats) or missed beats detections since it has been showed that abnormal beats crucially distort subsequent short-term HRV analysis (Peltola 2012). Briefly, the spurious R–R intervals were identified by using an artifact detection algorithm based on the intra-individual calculation of an artifact threshold criterion (Berntson et al. 1990), and they were then replaced using cubic spline interpolation. Both artifact detections and their consequent replacements were performed using a recent data processing software [ArTiiFACT version 2.06 (Kaufmann et al. 2011)].

Diving bradycardia modeling

All datasets were time-aligned in each condition using cubic spline interpolation/extrapolation since BH times were slightly different between BHDs. To highlight the comparison of both conditions, we chose to normalize HR using the percentage change from the maximum (peak) value for each BH as follows:

$$\text{relative HR change } (\%) = \frac{\text{absolute HR value}}{\text{absolute HR peak value}} \cdot 100$$

HR datasets were analyzed using nonlinear curve fitting toolbox implemented in OriginPro software (OriginLab, Northampton, MA). Parameters were calculated by using least square nonlinear regression in which the convergence criterion was satisfied by minimizing the sum of squared errors (Levenberg–Marquardt algorithm). The number of maximum iterations allowed was 400, and the iteration process continued until successive repetitions reduced the sum of squared residuals by $<10^{-9}$. Based on the observed mean HR kinetic, we hypothesized that a piecewise regression analysis would describe HR behaviour during prolonged BH. Therefore, the parameter estimates in both conditions were determined as a function of time (t) by using a piecewise function defined as follows:

When $t < O_{2bp}$ (first sub-function):

$$\%HR(t) = HR_{max} - A\left[1 - e^{\left(\frac{-t}{\tau}\right)}\right] + B \cdot t$$

when $t > O_{2bp}$ (second sub-function):

$$\%HR(t) = HR_{max} - A \cdot \left[1 - e^{\left(\frac{-O_{2bp}}{\tau}\right)}\right] + B \cdot O_{2bp} - C \cdot (t - O_{2bp})$$

where %HR (t) is the relative HR change at any given time t; HR_{max} is the peak HR and equals 100 (%) because HR was previously normalized using the percentage change from the peak value; τ is the time constant of the exponential decay (i.e., the time needed to reach 63 % of the lowest HR during the normoxic phase of BH); A is the theoretical amplitude of the exponential decay; B is the slope (i.e., sensitivity) of the linear increase in %HR following the exponential drop; O_{2bp} ("oxygen-conserving breaking point") is the time delay at which HR kinetics changes its behaviour; C is the slope (sensitivity) of the linear decrease in %HR following O_{2bp}.

Setting the derivative of the first sub-function equal to zero and finding the solution give the time (T_{min}) at which the minimum value of the exponential decay occurs. Hence, substituting the algebraic expression for T_{min} back into the sub-function gives the expression for the actual amplitude of the exponential decay, i.e., the magnitude of the bradycardia during the normoxic phase of BH ($A_{\%HR}$). Below are the expressions for these two additional derived parameters depending on the fitted parameters:

$$T_{min} = \tau \cdot \ln\left(\frac{A}{B \cdot \tau}\right)$$

$$A_{\%HR} = A - B \cdot \tau \cdot \left[1 + \ln\left(\frac{A}{B \cdot \tau}\right)\right]$$

The model parameters as well as the derived parameters described above are presented in Fig. 1 (panel a).

HRV analysis

During resting phases, HRV parameters were calculated over the most stable period of 5 min chosen from the 15-min recording time of each resting phase. Before HRV analysis, the non-stationary trends of the signal were removed using the smoothness prior approach (Tarvainen et al. 2002) and the smoothing parameter was set to $\lambda = 500$ which corresponds to a cutoff frequency of 0.035 Hz (i.e., below LF frequency band). A widely accepted time-domain parameter known as the root mean square of successive difference of R–R intervals (RMSSD) was calculated, and it is considered as a marker of parasympathetic activity (Heart

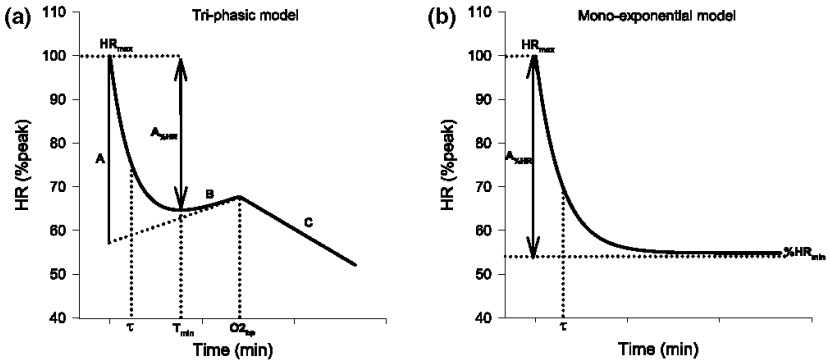


Fig. 1 Description of model parameters regarding the tri-phasic model (**a**) and the mono-exponential model of Caspers et al. (**b**). HR_{max}, maximum heart rate expressed as percentage; τ, time constant of the exponential decay; A, theoretical amplitude of the exponential decay; B, slope (sensitivity) of the increase in %HR following the exponential drop; O_{2bp} ("oxygen-conserving breaking point"), time delay at which HR kinetic changes its behaviour; C, slope (sensitivity) of the decrease in %HR following O_{2bp}; T_{min}, time at which %HR reached its minimum value during exponential decay; $A_{\%HR}$, amplitude of the actual exponential decay; $\%HR_{min}$, minimum heart rate expressed as percentage of maximum heart rate

rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology 1996). In addition, the short-term fractal scaling exponent (DFAα1) from nonlinear methods was calculated over the range of $4 \leq n \leq 16$ heart beats, and it quantifies the short-term fractal organization in human HRV (Peng et al. 1995). The output of DFA is an exponent (α1), which is the slope obtained by linear regression of a log–log fluctuation plot against window size (Peng et al. 1995). It has been demonstrated that decreased α1 is physiologically related to co-activation of peripheral sympathetic and central vagal outflows, whereas an increased α1 corresponded to peripheral sympathetic activation associated with vagal withdrawal to the heart (Tulppo et al. 2005). All HRV indices were computed by means of Kubios HRV software version 2.1. During dynamic HR changes (i.e., while in BH), RMSSD was calculated for each of the 30 s while in BH. This time window of analysis has been previously validated to capture the instantaneous change in parasympathetic regulation when the usual conditions for signal stableness are affected (Goldberger et al. 2006; Smith et al. 2013). In addition, both RMSSD and DFAα1 were calculated during normoxic phase of BH and hypoxic phase of BH, according to periods specified by the tri-phasic model (Figs. 2 and 3).

Goodness of fit and models comparison

The adjusted version for the proportion of the variation (R^2_{adj}), root mean squared errors (RMSE) and reduced

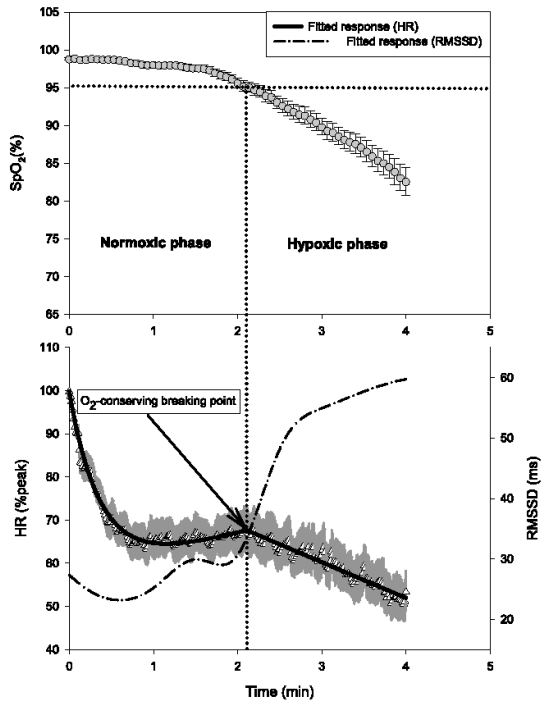


Fig. 2 Mean (±SE) time courses of diving bradycardia (%HR), peripheral oxygen saturation (SpO_2) and *cubic spline* interpolation of the root mean square of successive difference of R–R intervals (RMSSD) during dry-body breath holding. Breath holding is separated into two phases with a *vertical dotted line* passing through the "oxygen-conserving breaking point"

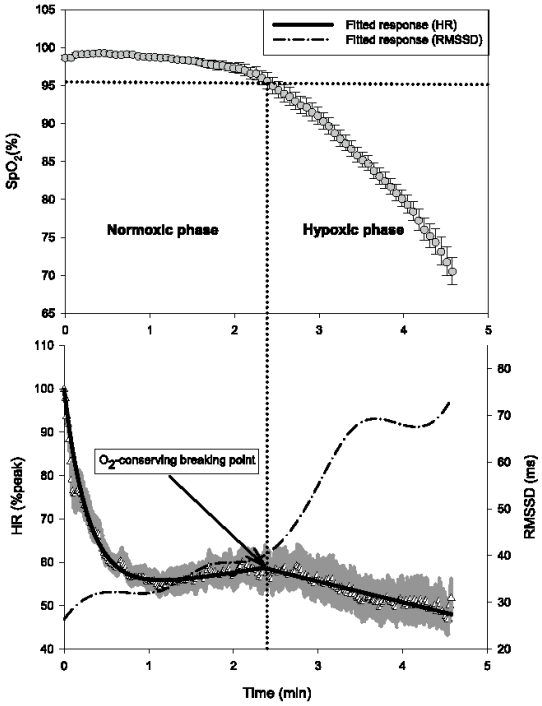


Fig. 3 Mean (±SE) time courses of diving bradycardia (%HR), peripheral oxygen saturation (SpO_2) and *cubic spline* interpolation of the root mean square of successive difference of R–R intervals (RMSSD) during immersed-body breath holding. Breath holding is separated into two phases with a *vertical dotted line* passing through the "oxygen-conserving breaking point"

Chi-squared (χ^2_{red}) were used to assess goodness of fit for each model (Motulsky and Christopoulos 2004). The most suitable model to describe the kinetics of the diving bradycardia would be the model with the highest R^2_{adj} and both lowest χ^2_{red} and RMSE. Akaike's information criterion (AIC) based on information theory (Burnham and Anderson 2002) was reported to compare the tri-phasic model (Fig. 1, panel a) with the mono-exponential model of Caspers et al. (Fig. 1, panel b) during prolonged BH. This comparison was made to ensure that the proposed tri-phasic model is more accurate than the mono-phasic one of Caspers to describe HR kinetics when BH is maintained for several minutes. In addition, the extra sum of square F test (F test) was calculated on the basis of the tri-phasic model applied on dry-body BH datasets and immersed-body BH datasets to compare the overall kinetics between the two conditions.

HRV analysis

The samples were first tested for equality of variances and sphericity with Levene's test and Mauchly's test, respectively. If Mauchly's test was significant, the degrees of freedom were corrected using Greenhouse–Geisser estimates of sphericity. A one-way repeated-measure ANOVA was used to compare HRV indices between the three phases (resting phase, normoxic phase of BH and hypoxic phase of BH) in both conditions. In addition, a two-way repeated-measure ANOVA was used to analyze the interactions of HRV indices between the two conditions (dry-body BH and immersed-body BH) across the three phases (rest phase, normoxic phase of BH and hypoxic phase of BH). If main effect was significant, multiple pairwise comparisons adjusted with Holm–Sidak correction were conducted. Statistical analysis was performed and graphs were plotted using OriginPro software version 9.0 and Sigmaplot software version 12.3 (SPSS, Chicago, USA), respectively. The results in tables and in the text are expressed as the mean value ± SD. A P value <0.05 was considered statistically significant for all analyses.

Results

Dry-body BH and immersed-body BH lasted 240.5 ± 18.5 and 268.0 ± 40.2, respectively ($P < 0.05$).

Goodness of fit and models comparison

All models successfully converged within a few iterations (<20) and reached the χ^2 tolerance value of 10^{-9}. The parameter estimates and their respective confidence intervals are reported in Table 1. The F test calculated on the residual sum of square from the tri-phasic model showed that HR kinetics was different between dry-body BH and immersed-body BH ($P < 0.05$; Table 1). In addition, AIC, SS_R, χ^2_{red} and RMSE from the tri-phasic model were lower than the ones from the mono-phasic model whether in dry-body BH or immersed-body BH (Table 2). Conversely, R^2_{adj} from the tri-phasic model was higher than the mono-phasic model in both conditions (Table 2).

HRV indices and SpO_2

Time courses of the diving bradycardia (%HR), peripheral oxygen saturation (SpO_2) and cubic spline interpolation of the root mean square of successive difference of R–R intervals (RMSSD) during dry-body and immersed-body BH are presented in Figs. 2 and 3. BH is separated into a normoxic and a hypoxic phase according to the time at which the "oxygen-conserving breaking point" occurred. At this breaking point, absolute HR values were lower in immersed condition than in air (58.7 ± 11.0 vs. 67.9 ± 14.8 bpm, respectively; $P < 0.001$), whereas SpO_2 percentages were similar for both dry-body and immersed-body BH (95.1 ± 2.1 vs.

Table 1 Model parameters and their respective confidence limits for the tri-phasic model applied on datasets of prolonged breath holding in the two experimental conditions

Parameters	Dry-body BH*	LCL–UCL (95 %)	Immersed-body BH*	LCL–UCL (95 %)
Tri-phasic model				
τ (min)	0.36	0.31–0.42	0.29	0.25–0.32
A (%)	42.7	37.37–48.12	48.28	45.44–51.12
B (%.min^{-1})	5.00	1.80–8.19	3.08	1.39–4.78
$O2_{bp}$ (min)	2.10	1.77–2.21	2.36	2.10–2.61
C (%.min^{-1})	8.27	6.87–9.67	4.80	3.71–5.89
T_{min} (min)	1.15	1.09–1.23	1.16	1.07–1.22
$A_{\%HR}$ (%)	35.17	30.60–40.94	43.82	40.22–46.92

BH breath holding, τ time constant of the exponential decay, *A* theoretical amplitude of the exponential decay, *B* slope (sensitivity) of the increase in %HR following the exponential drop, O_{2bp} ("oxygen-conserving breaking point"), time delay at which HR kinetic changes its behaviour; *C* slope (sensitivity) of the decrease in %HR following O_{2bp}; T_{min}, time at which %HR reached its minimum value during exponential decay, $A_{\%HR}$, amplitude of the actual exponential decay, *LCL* lower confidence limit, *UCL* upper confidence limit

* $P < 0.05$ between kinetics (*F* test)

Table 2 Statistical comparison of the goodness of fit between the mono-phasic model and the tri-phasic model

Models	SS_R	R^2_{adj}	RMSE	χ^2_{red}	Iterations	AIC
Dry-body BH						
Mono-phasic model[a]	4984.8	0.75	4.10	16.78	10	851.1
Tri-phasic model	396.3	0.98	1.16	1.34	11	95.5
Immersed-body BH						
Mono-phasic model[a]	2649.3	0.85	2.99	8.92	6	661.5
Tri-phasic model	713.0	0.96	1.55	2.41	19	271.8

SS_R sum of squared residuals, R^2_{adj} adjusted coefficient of variation, *RMSE* root mean squared errors, χ^2_{red} reduced Chi-squared, *AIC* Akaike's information criterion, *BH* breath holding

[a] Model proposed by Caspers et al.

Table 3 Heart rate variability indices of the two breath-holding phases and their respective baseline values

HRV indices	$Rest_{dry}$	Dry-body BH		$Rest_{H2O}$	Immersed-body BH	
		NX_{dry}	HX_{dry}		NX_{H2O}	HX_{H2O}
RMSSD (ms)	38.2 ± 13.3	27.5 ± 14.0*	54.3 ± 23.0#	40.1 ± 22.2	32.9 ± 17.0	67 ± 27.9#
DFAα1	1.35 ± 0.16	1.40 ± 0.20	1.16 ± 0.30#	1.46 ± 0.22	1.39 ± 0.22	1.02 ± 0.20#
mHR (bpm)	64 ± 7	70 ± 11	58 ± 13§	72 ± 10	65 ± 9	54 ± 12§

BH breath holding, *HRV* heart rate variability, *mHR* mean heart rate, NX_{dry} normoxic phase in dry-body BH, HX_{dry} hypoxic phase in dry-body BH, NX_{H2O} normoxic phase in immersed-body BH, HX_{H2O} hypoxic phase in immersed-body BH, *RMSSD* root mean square of successive difference of R–R intervals, *DFAα1* short-term fractal scaling exponent

* $P < 0.05$ versus respective baseline value

§ $P < 0.05$ versus respective value of normoxic phase

# $P < 0.05$ versus both respective normoxic and baseline values

95.2 ± 3.0 %, respectively; $P = 0.49$; Figs. 2 and 3). The latency time to reach nadir SpO_2 after breathing was resumed was similar for dry-body BH and immersed-body BH (11.2 ± 6.6 vs. 16.0 ± 8.0 s, respectively; $P = 0.37$).

As expected, the normoxic phases of BH had higher level of SpO_2 than the hypoxic phases had both in air (97.9 ± 1.0 vs. 89.3 ± 3.6 %, respectively; $P < 0.001$) and in immersion (98.3 ± 1.0 vs. 85.0 ± 3.4 %, respectively; $P < 0.001$). HRV indices are presented in Table 3. There were significant effects of phase type on both RMSSD and DFA α1 whether in air or immersed condition (all $P < 0.001$). During normoxic phase of BH, RMSSD

reached lower values than its respective baseline value in air ($P < 0.05$), whereas no difference was found between these two phases in immersed condition ($P = 0.83$). The RMSSDs were higher in the hypoxic phase of BH compared with their respective baselines values (dry-body BH: $+39.5 \pm 31.4$ % $P < 0.001$; immersed-body BH: $+93.9 \pm 102$ %; $P < 0.001$) and their respective normoxic phase of BH (dry-body BH: $+109.0 \pm 47.8$ %; $P < 0.001$; immersed-body BH: $+112.6 \pm 55.8$ %; $P < 0.001$). As a result of increased RMSSDs, mean HR reached lower absolute values in the hypoxic phase of BH than in the normoxic phase whether in air ($P < 0.001$) or in immersion ($P < 0.001$) (Table 3). Nonlinear DFAα1 indexes decreased during the hypoxic phase of BH when compared to their respective baseline values (dry-body BH: -13.6 ± 21.4 %; $P < 0.001$; immersed-body BH: -29.2 ± 14.3 %; $P < 0.001$) and their respective normoxic phase of BH (dry-body BH: -18.0 ± 17.4 %; $P < 0.05$; immersed-body BH: -26.0 ± 12 %; $P < 0.001$). Finally, two-way ANOVA did not reveal any significant interaction on HRV indices between conditions and phase types.

Discussion

This study is the first to quantify the beat-to-beat heart rate kinetics in prolonged static apneas performed by trained breath-hold divers both in air and in immersed condition by means of a regression-based model. Similar nonlinear regression approaches have already been used to quantify the heart rate kinetics during other non-stationary physiological conditions like the reactivation of parasympathetic tone following exercise (Pierpont et al. 2013). In the early stage of BH, the present model has shown that HR decreased exponentially, which is in line with the model previously used to fit the bradycardia in response to short static BH (Caspers et al. 2011). Then, the model has shown a slight linear rise in HR carried on up until a breaking point we have chosen to name "oxygen-conserving breaking point" and preceding an additional drop in HR. This final linear drop in HR was paralleled by the visible decrease in SpO_2 (Figs. 2, 3). The tri-phasic model had similar patterns whether BH was performed in air or in immersed condition.

In addition to accurately fitting diving bradycardia, the regression-based model highlighted a breaking point in the HR kinetics at the onset of a second HR drop precisely occurring at equivalent level of SpO_2 (~95 %) between dry-body BH and immersed-body BH despite different BH durations (Figs. 2, 3). Consequently, this finding supports the occurrence of a physiological event, i.e., the "oxygen-conserving breaking point" since this breaking point is immediately followed by progressive decrease in myocardial work. The occurrence of this particular event is delayed in immersed-body BH due to the bradycardia in the beginning of BH being more pronounced in immersed-body BH than in dry-body BH. Indeed, the fitted model parameters indicate a reduced exponential time constant (τ) and greater HR amplitude ($A_{\%HR}$) when BH was performed in immersed condition. Consequently, the lagging of the breaking point in immersed-body BH immediately preceding a second bradycardia is thereby supporting an amplified oxygen-sparing effect associated with face immersion (de Bruijn et al. 2009; Andersson and Evaggelidis 2009).

It should be noted that the level of SpO_2 at which the second bradycardia occurred corresponds to increase in sensory discharge frequency of the carotid sinus nerve where chemoreceptors are located (González et al. 1992). As a result, this breaking point allows the distinction between a normoxic phase of BH and a hypoxic phase of BH, terminology which has recently been adopted to split prolonged BH into two phases (Laurino et al. 2012). According to the mathematical model, the normoxic phase of BH includes two opposite patterns in HR kinetics. The first one showing a large bradycardia first in exponential decay then finishing with a slight linear rise; however, both patterns were not associated with any concomitant increase in RMSSD (from baseline values) whether in air or in immersed condition. Similar results have already been reported in elite BHDs (Kiviniemi et al. 2012; Lemaître et al. 2008) and were likely due to BH-induced respiratory arrest, since HRV is greatly dependent upon both respiratory frequency and tidal volume (Ritz 2009). The transition from normoxic to hypoxic phase is marked by an additional drop in HR concomitant with a shift in cardiac autonomic regulation as indicated by a substantial change in both linear and nonlinear HRV indexes. In the hypoxic phase, increased RMSSD is in accordance with previous investigations which showed fairly similar results during final stage of prolonged BH (Lemaître et al. 2008; Kiviniemi et al. 2012). It is now well established that voluntary breathing of a hypoxic mixture leads to both tachycardia (Naeije 2010) and hyperventilation (Teppema and Dahan 2010) mediated by concomitant vagal withdrawal and increase in sympathetic activity. In the absence of ventilation (i.e., no afferent influence from stretch receptors in the lungs), a reverse mechanism is observed and peripheral chemoreceptor stimulation induces an enhancement of vagal activity resulting in bradycardia (de Burgh et al. 1988; Chapleau and Sabharwal 2011). The final linear decrease in HR vagally mediated aimed to further reduce myocardial work, and it is likely to be a unique adaptive feature of human diving bradycardia against hypoxic environment. Although RMSSD reached similar values during hypoxic phases in both conditions, we observed a more pronounced decrease in HR during dry-body BH than immersed-body BH as indicated by a steeper

slope in the final linear drop in HR (C model parameter; Table 3). This finding was not unexpected since the relationship between HR and HRV has shown to be curvilinear (Goldberger et al. 2001), i.e., increase in parasympathetic activity will have a lesser impact upon low HR values than upon high HR values. This nonlinear relationship may explain the present dissociation between HR and HRV across the two conditions since HR reached lower absolute values in immersed condition than in air at the occurrence of the "oxygen-conserving breaking point."

The drop in DFAα1 in the hypoxic phase of BH showed that increase in parasympathetic activity to the sinoatrial node was accompanied by an increase in peripheral sympathetic activity, therefore leading to autonomic co-activation (Tulppo et al. 2005). Additional increase in peripheral sympathetic tone illustrated by decreased DFAα1 is consistent with studies which have reported a massive rise in both mean blood pressure and muscle sympathetic nerve activity only in the second half of prolonged BH (Heusser et al. 2009; Perini et al. 2010; Guaraldi et al. 2009). The onset of involuntary breathing movements, i.e., physiological breaking point, was not recorded in the present study. Consequently, it does not allow us to state whether or not there are similarities between onsets of the well-established physiological breaking point and the proposed "oxygen-conserving breaking point." Moreover, involuntary breathing movements result from stimulation of the respiratory drive due to carbon dioxide accumulation (Lin et al. 1974), thereby leading to an increase in venous return, and thus stroke volume, which maintain cerebral perfusion (Dujic et al. 2009). Therefore, progressive BH-induced hypercapnic challenge and subsequent increased stroke volume should also be considered as potential contributors to the reduced HR through a baroreflex mechanism in the latter stage of static BH, i.e., the third phase of the model. Accordingly, decrease in DFAα1, i.e., breakdown of fractal organization in HR, indirectly suggests that vagally mediated bradycardia following the "oxygen-conserving breaking point" might result from complex synergistic interactions of peripheral chemoreceptor activation and baroreceptor activation.

Using eyeballing and statistical goodness of fit parameters criteria showed that the tri-phasic model is accurate to fit the diving bradycardia when BH is maintained for several minutes. Statistical parameters such as SS_R, RMSE and χ^2_{red} as well as Akaike's information criterion (AIC) revealed that tri-phasic model is more accurate than the mono-exponential one (Motulsky and Ransnas 1987). In addition, our model converged within less than 20 iterations although the parameters were constrained within wide physiological ranges, thus enhancing the reliability of the model. Surprisingly, Caspers et al. showed in non-divers reduced exponential time constants (τ) than the ones of the present study both in air (16.2 vs. 21.6 s, respectively) s and in immersion (10.4 vs. 17.4 s, respectively). It would have been expected that BHDs would have shown a faster decrease in HR than non-divers. However, it should be noted that τ of Caspers' study was calculated from BH performed at lower water temperature (range 6–25 °C) than the present investigation (27 °C); this might explain the discrepancies between τ values since the rate at which HR declines is known to be increased at low water temperature (Jay et al. 2007). Conversely, our results revealed substantially greater HR amplitudes ($A_{\%HR}$) than the ones reported by Caspers et al. both in air (35 vs. 17 %, respectively) and in immersion (44 vs. 30 %, respectively), which is in accordance with a recent work that demonstrated a more pronounced bradycardia in BHDs than in non-divers (Tocco et al. 2012). BHDs wore a mask during immersed-body BH which might have partly obscured the full expression of the diving response (de Bruijn et al. 2009). We took the precaution to use a specific diving mask, i.e., a little mask that did not cover the whole facial area, since the main facial cold afferent is through the ophthalmic branch of the trigeminal nerve [forehead and eye region (Schuitema and Holm 1988)]. Model-derived parameters such as the amplitude ($A_{\%HR}$) and the exponential time constant (τ) correspond, respectively, to the magnitude of the bradycardia and the rate at which HR decreases during the normoxic phase of BH. As both these parameters indicated a more pronounced bradycardia in immersed-body BH than in dry-body BH, the diving mask worn by the subjects likely had little effect on the magnitude of the diving bradycardia. Given their ability to differentiate the two conditions ($A_{\%HR}$ and τ), our results suggest that these parameters describing the early stage of the human diving bradycardia might be valuable clinical parameters to quantify efferent autonomic pathways liable to be impaired (Caspers et al. 2011). In addition, we suggest that this quantitative approach may have practical application in the field of training, such as monitoring the effects of BH training on the diving response in the short and/or in the long term. Finally, this model seems well-adapted to prolonged BH since it takes into account additional cardioprotective mechanisms to counteract hypoxic challenge as illustrated by the breaking point (O_{2bp}) and the subsequent linear decrease in HR (C parameter). However, statistical results from the meta-analysis of Caspers et al. (2011) using a mono-exponential decay have showed high coefficient of determination (R^2) for short BH with and without face immersion ($R^2 > 0.94$; $R^2 > 0.93$, respectively); thus, a single-phase model as the one proposed by Caspers et al. is sufficient to fit the time course of HR reduction just until the oxygen-conserving breaking point has not been reached (i.e., for short BH).

SpO_2 reached its nadir after breathing was resumed during both dry-body BH and immersed-body BH,

representing a mean latency time to detect arterial oxygen saturation (from our finger pulse oximeter) of 18 and 24 s, respectively. Fairly similar lag times in detecting central hypoxia by means of finger probe have been observed and were explained by the circulation time between the lungs and the radial artery, a phenomenon that would tend to be increased via BH-induced vasoconstriction (Lindholm et al. 2007; Andersson and Evaggelidis 2009). Accordingly, the level of SpO_2 measured at the finger throughout BH may not be considered as representative of central hypoxia where chemoreceptors are located. To estimate the contribution of this latency time on level of SpO_2 at which the breaking point occurred, we have reported a weighted SpO_2 for each condition taking into account the lag times abovementioned. These levels of SpO_2 compared to the ones recorded at the finger during dry-body BH and immersed-body BH revealed mean (±SD) percentage errors of 0.7 % (0.4) and 1.9 % (1.0), respectively. Given the likely shorter lag times at the breaking point than the lag times reported at the end of BH (i.e., 18 and 24 s), it is reasonable to assume that the latency phenomenon, at least until the breaking point, had little effect over SpO_2 percentages measured at the finger; thus, they have been considered as good estimates of arterial oxygen saturation.

In conclusion, nonlinear regression analysis was used to quantify changes in heart rate kinetic during prolonged static breath holding. The tri-phasic pattern is both simple and well-adapted to fitting the diving bradycardia. Besides, it provides physiological meaningfulness as indicated by the "oxygen-conserving breaking point" found out in heart rate kinetics whose occurrence was concomitant with a shift toward a synergistic sympathetic and parasympathetic activation. Both modeling and heart rate variability approaches, as a whole, offer further insight into the adaptive changes in cardiac autonomic regulation in response to progressive hypercapnic hypoxia to which trained breath-hold divers are frequently exposed.

Acknowledgments The investigators would like to thank the divers for their enthusiastic participation in this study and Frank Bour for his technical assistance with the PhysioFlow PF-05 device.

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

References

Andersson JP, Evaggelidis L (2009) Arterial oxygen saturation and diving response during dynamic apneas in breath-hold divers. Scand J Med Sci Sports 19(1):87–91. doi:10.1111/j.1600-0838.2008.00777.x

Andersson J, Schagatay E, Gislen A, Holm B (2000) Cardiovascular responses to cold-water immersions of the forearm and face, and their relationship to apnoea. Eur J Appl Physiol 83(6):566–572

Berntson GG, Quigley KS, Jang JF, Boysen ST (1990) An approach to artifact identification: application to heart period data. Psychophysiology 27(5):586–598

Burnham KP, Anderson DR (2002) Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach. Springer, New York

Caspers C, Cleveland S, Schipke JD (2011) Diving reflex: can the time course of heart rate reduction be quantified? Scand J Med Sci Sports 21(1):18–31

Chapleau MW, Sabharwal R (2011) Methods of assessing vagus nerve activity and reflexes. Heart Fail Rev 16(2):109–127

Cornelius JF, Sadr-Eshkevari P, Arasho BD, Sandu N, Spiriev T, Lemaitre F, Schaller B (2010) The trigemino-cardiac reflex in adults: own experience. Expert Rev Cardiovasc Ther 8(7):895–898. doi:10.1586/erc.10.74

Costalat G, Coquart J, Castres I, Tourny C, Lemaitre F (2013) Hemodynamic adjustments during breath-holding in trained divers. Eur J Appl Physiol 3:3

de Bruijn R, Richardson M, Schagatay E (2009) Oxygen-conserving effect of the diving response in the immersed human. Diving Hyperb Med 39(4):193–199

de Burgh DalyM, Kirkman E, Wood LM (1988) Cardiovascular responses to stimulation of cardiac receptors in the cat and their modification by changes in respiration. J Physiol 407:349–362

Dujic Z, Uglesic L, Breskovic T, Valic Z, Heusser K, Marinovic J, Ljubkovic M, Palada I (2009) Involuntary breathing movements improve cerebral oxygenation during apnea struggle phase in elite divers. J Appl Physiol 107(6):1840–1846

Goldberger JJ, Challapalli S, Tung R, Parker MA, Kadish AH (2001) Relationship of heart rate variability to parasympathetic effect. Circulation 103(15):1977–1983

Goldberger JJ, Le FK, Lahiri M, Kannankeril PJ, Ng J, Kadish AH (2006) Assessment of parasympathetic reactivation after exercise. Am J Physiol Heart Circ Physiol 290(6):13

González C, Almaraz L, Obeso A, Rigual R (1992) Oxygen and acid chemoreception in the carotid body chemoreceptors. Trends Neurosci 15(4):146–153. doi:10.1016/0166-2236(92)90357-E

Guaraldi P, Serra M, Barletta G, Pierangeli G, Terlizzi R, Calandra-Buonaura G, Cialoni D, Cortelli P (2009) Cardiovascular changes during maximal breath-holding in elite divers. Clin Auton Res 19(6):363–366

Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology (1996). Circulation 93(5):1043–1065

Heusser K, Dzamonja G, Tank J, Palada I, Valic Z, Bakovic D, Obad A, Ivancev V, Breskovic T, Diedrich A, Joyner MJ, Luft FC, Jordan J, Dujic Z (2009) Cardiovascular regulation during apnea in elite divers. Hypertension 53(4):719–724. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.127530

Jay O, Christensen JP, White MD (2007) Human face-only immersion in cold water reduces maximal apnoeic times and stimulates ventilation. Exp Physiol 92(1):197–206

Joulia F, Lemaitre F, Fontanari P, Mille ML, Barthelemy P (2009) Circulatory effects of apnoea in elite breath-hold divers. Acta Physiol 197(1):75–82

Kaufmann T, Sutterlin S, Schulz SM, Vogele C (2011) ARTiiFACT: a tool for heart rate artifact processing and heart rate variability analysis. Behav Res Methods 43(4):1161–1170

Kiviniemi AM, Breskovic T, Uglesic L, Kuch B, Maslov PZ, Sieber A, Seppanen T, Tulppo MP, Dujic Z (2012) Heart rate variability during static and dynamic breath-hold dives in elite divers. Auton Neurosci 169(2):95–101. doi:10.1016/j.autneu.2012.05.004

Laurino M, Menicucci D, Mastorci F, Allegrini P, Piarulli A, Scilingo EP, Bedini R, Pingitore A, Passera M, L'Abbate A, Gemignani A (2012) Mind-body relationships in elite apnea divers during

breath holding: a study of autonomic responses to acute hypoxemia. Front Neuroeng 5(4):00004
Lemaître F, Buchheit M, Joulia F, Fontanari P, Tourny-Chollet C (2008) Static apnea effect on heart rate and its variability in elite breath-hold divers. Aviat Space Environ Med 79(2):99–104. doi:10.3357/asem.2142.2008
Lin YC, Lally DA, Moore TO, Hong SK (1974) Physiological and conventional breath-hold breaking points. J Appl Physiol 37(3):291–296
Lindholm P, Lundgren CE (2009) The physiology and pathophysiology of human breath-hold diving. J Appl Physiol 106(1):284–292
Lindholm P, Blogg SL, Gennser M (2007) Pulse oximetry to detect hypoxemia during apnea: comparison of finger and ear probes. Aviat Space Environ Med 78(8):770–773
Marabotti C, Belardinelli A, L'Abbate A, Scalzini A, Chiesa F, Cialoni D, Passera M, Bedini R (2008) Cardiac function during breath-hold diving in humans: an echocardiographic study. Undersea Hyperb Med 35:83–90
Marabotti C, Piaggi P, Menicucci D, Passera M, Benassi A, Bedini R, L'Abbate A (2013) Cardiac function and oxygen saturation during maximal breath-holding in air and during whole-body surface immersion. Diving Hyperb Med 43(3):131–137
Motulsky H, Christopoulos A (2004) Fitting models to biological data using linear and nonlinear regression: a practical guide to curve fitting. Oxford University Press, Oxford. doi:citeulike-article-id:8808538
Motulsky HJ, Ransnas LA (1987) Fitting curves to data using nonlinear regression: a practical and nonmathematical review. Faseb J 1(5):365–374
Naeije R (2010) Physiological adaptation of the cardiovascular system to high altitude. Prog Cardiovasc Dis 52(6):456–466
Pan J, Tompkins WJ (1985) A real-time QRS detection algorithm. IEEE Trans Bio Med Eng 32(3):230–236
Peltola MA (2012) Role of editing of R–R intervals in the analysis of heart rate variability. Front Physiol 3(148):00148
Peng CK, Havlin S, Stanley HE, Goldberger AL (1995) Quantification of scaling exponents and crossover phenomena in nonstationary heartbeat time series. Chaos 5(1):82–87
Perini R, Tironi A, Gheza A, Butti F, Moia C, Ferretti G (2008) Heart rate and blood pressure time courses during prolonged dry apnoea in breath-hold divers. Eur J Appl Physiol 104(1):1–7
Perini R, Gheza A, Moia C, Sponsiello N, Ferretti G (2010) Cardiovascular time courses during prolonged immersed static apnoea. Eur J Appl Physiol 110(2):277–283
Pierpont GL, Adabag S, Yannopoulos D (2013) Pathophysiology of exercise heart rate recovery: a comprehensive analysis. Ann Noninvasive Electrocardiol 18(2):107–117. doi:10.1111/anec.12061
Ritz T (2009) Studying noninvasive indices of vagal control: the need for respiratory control and the problem of target specificity. Biol Psychol 80(2):158–168. doi:10.1016/j.biopsycho.2008.08.003
Schaller B (2004) Trigeminocardiac reflex. A clinical phenomenon or a new physiological entity? J Neurol 251(6):658–665
Schuitema K, Holm B (1988) The role of different facial areas in eliciting human diving bradycardia. Acta Physiol Scand 132(1):119–120. doi:10.1111/j.1748-1716.1988.tb08306.x
Smith AL, Owen H, Reynolds KJ (2013) Heart rate variability indices for very short-term (30 beat) analysis. Part 1: survey and toolbox. J Clin Monit Comput 15:15
Tarvainen MP, Ranta-aho PO, Karjalainen PA (2002) An advanced detrending method with application to HRV analysis. IEEE Trans Biomed Eng 49(2):172–175. doi:10.1109/10.979357
Teppema LJ, Dahan A (2010) The ventilatory response to hypoxia in mammals: mechanisms, measurement, and analysis. Physiol Rev 90(2):675–754. doi:10.1152/physrev.00012.2009
Tocco F, Crisafulli A, Melis F, Porru C, Pittau G, Milia R, Concu A (2012) Cardiovascular adjustments in breath-hold diving: comparison between divers and non-divers in simulated dynamic apnoea. Eur J Appl Physiol 112(2):543–554
Tulppo MP, Kiviniemi AM, Hautala AJ, Kallio M, Seppänen T, Mäkikallio TH, Huikuri HV (2005) Physiological background of the loss of fractal heart rate dynamics. Circulation 112(3):314–319. doi:10.1161/circulationaha.104.523712

Article n°3

Respiratory Physiology & Neurobiology 192 (2014) 48–54

Contents lists available at ScienceDirect

Respiratory Physiology & Neurobiology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/resphysiol

Cardio-ventilatory responses to poikilocapnic hypoxia and hypercapnia in trained breath-hold divers

Guillaume Costalat[a,*], Aurélien Pichon[b], Jeremy Coquart[a], Fabrice Bauer[c], Frédéric Lemaître[a]

[a] Faculté des sciences du sport, CETAPS, EA n°3832, Université de Rouen, France
[b] Université Paris 13 Nord, Sorbonne Paris Cité, Laboratoire "Réponses cellulaires et fonctionnelles à l'hypoxie", EA n°2363 Bobigny, France
[c] Département de cardiologie, Centre Hospitalier Universitaire, Unité INSERM n°U1096, Rouen, France

ARTICLE INFO

Article history:
Accepted 6 December 2013

Keywords:
Breath-holding
Hypoxic ventilatory response
Hypercapnic ventilatory response
Poikilocapnic hypoxia

ABSTRACT

Trained breath-hold divers (BHDs) are exposed to repeated bouts of intermittent hypoxia and hypercapnia during prolonged breath-holding. It has thus been hypothesized that their specific training may develop enhanced chemo-responsiveness to hypoxia associated with reduced ventilatory response to hypercapnia.

Hypercapnic ventilatory responses (HCVR) and hypoxic ventilatory responses at rest (HVR_r) and exercise (HVR_e) were assessed in BHDs ($n = 7$) and a control group of non-divers (NDs = 7). Cardiac output (CO), stroke volume (SV) and heart rate (HR) were also recorded. BHDs presented carbon dioxide sensitivity similar to that of NDs (2.85 ± 1.41 vs. 1.85 ± 0.93 L min^{-1} mmHg^{-1}, $p > 0.05$, respectively). However, both HVR_r (+68%) and HVR_e (+31%) were increased in BHDs. CO and HR reached lower values in BHDs than NDs during the hypoxic exercise test.

These results suggest that the exposure to repeated bouts of hypoxia/hypercapnia frequently experienced by trained breath-hold divers only enhances their chemo-responsiveness to poikilocapnic hypoxia, without altering HCVR.

© 2013 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Breath-hold divers (BHDs) are exposed to extreme arterial hypoxia and hypercapnia during prolonged breath-holding (BH). It has thus been hypothesized that the repeated exposure to hypoxia/hypercapnia induced by BH training might reset the chemosensitivities for both peripheral and central chemoreceptors. Most studies have noted that the slopes of the ventilatory responses to hypercapnia (HCVR) are usually blunted in underwater hockey players (Davis et al., 1987), Ama divers (Masuda et al., 1982), Royal Navy divers (Florio et al., 1979) and trained breath-hold divers (Delapille et al., 2001; Grassi et al., 1994; Ivancev et al., 2007), although some investigations have shown no significant difference with the control group (Bjurstrom and Schoene, 1987; Dujic et al., 2008; Masuda et al., 1981). Likewise, contradictory results with the hypoxic ventilatory responses (HVR) at rest (HVR_r) and exercise (HVR_e) have been reported in BHDs (Breskovic et al., 2010a; Foster and Sheel, 2005; Grassi et al., 1994).

Human physiological response to BH is called the diving reflex and its main effects are bradycardia, decreased cardiac output and increased arterial blood pressure (Ferretti and Costa, 2003). Several studies have demonstrated that these mechanisms are accentuated in trained BHDs and slow down the depletion of the lung oxygen stores through an oxygen-conserving effect (at rest and exercise), thereby reducing overall oxygen uptake (Lindholm and Lundgren, 2009). The combination of repeated BH-induced hypoxic exposure with the BH-induced oxygen-conserving effect suggests the possibility of BH training as a cost-effective alternative to intermittent hypoxia (Lemaître et al., 2010). Since brief intermittent hypoxia exposures (IHE) have been shown to increase HVR_r (Foster et al., 2005) and HVR_e (Katayama et al., 2001), IHE might therefore be considered as an effective acclimatization strategy to reduce the risk for high-altitude disorders during high altitude exposure (Wille et al., 2012). Recent studies suggest that training with voluntary hypoventilation-induced IHE could be an interesting way for athletes to benefit from intermittent hypoxia without going to altitude or using expensive devices to simulate the hypoxic environment (Woorons et al., 2007, 2010). We thus hypothesized that trained BHDs would have greater HVR_r and HVR_e compared with a control group, due to increases in both minute ventilation (V_E) and arterial oxygen saturation (SaO_2); we further hypothesized that these responses might also be associated with blunted HCVR. We

* Corresponding author at: CETAPS, EA n°3832, Faculté des Sciences du Sport, Boulevard Siegfried, Université de Rouen, 76130 Mont-Saint-Aignan, France. Tel.: +33 232 107 793; fax: +33 232 107 793.
E-mail address: guillaume.costalat1@univ-rouen.fr (G. Costalat).

1569-9048/$ – see front matter © 2013 Elsevier B.V. All rights reserved.
http://dx.doi.org/10.1016/j.resp.2013.12.005

assessed the ventilatory and cardiovascular responses to hypercapnia at rest and to poikilocapnic hypoxia during rest and exercise in both BHDs and healthy control subjects.

2. Materials and methods

2.1. Subjects

Fourteen healthy male subjects volunteered to participate in this study and were split into two groups: trained divers ($n = 7$) and non-divers (NDs, $n = 7$). All experimental procedures in this study were performed in accordance with the declaration of Helsinki and were approved by the local research ethics committee. The participants were informed of the objectives and procedures of the study, and all gave written consent prior to the start of the experiment.

2.2. Experimental design

Each subject performed a rebreathing test followed by a hypoxic exercise test, with at least a day's rest between them. All experiments were carried out by the same experimenters in a controlled environment with constant temperature (22 °C).

2.2.1. Rebreathing test

The carbon dioxide (CO_2) sensitivity was assessed using a slightly modified rebreathing method as previously described and explained in greater detail elsewhere (Read, 1967). Briefly, the subjects were comfortably seated, breathing through a mouthpiece connected to a 3-way T-shaped manual directional valve (model 2100, Hans Rudolph, Inc., Kansas City, MO, USA) that allowed switching easily from room air to a 5-L non-diffusing gas bag (model 6005, Hans Rudolph, Inc., Kansas City, MO, USA), which was filled with a hyperoxic/hypercapgnic gas mixture (95% O_2–5% CO_2). After three minutes of breathing in ambient air, the participants were switched to the rebreathing bag mixture at the end of a voluntary exhalation. At the very beginning of CO_2 rebreathing, the subjects were asked to take three deep breaths to ensure that the partial pressures of CO_2 in the bag, lungs and arterial blood quickly equilibrated with the mixed venous partial pressure. After this equilibration phase, the subjects were instructed to breathe spontaneously. Expired gases were collected breath-by-breath in a metabograph (Vmax Encore, CareFusion, SensorMedics, Yorba Linda, CA, USA) to measure V_E, tidal volume (V_T), breathing frequency (F_r) and end-tidal CO_2 pressure ($PetCO_2$). Both V_E and V_T were expressed in units adjusted to body temperature and pressure, saturated with water vapor (BTPS). The rebreathing test ended when $PetCO_2$ reached 70 mmHg, V_E exceeded 100 L min^{-1} or the subject experienced severe discomfort.

2.2.2. Hypoxic ventilatory test

The poikilocapnic hypoxic ventilatory responses (HVR) were determined at both rest and exercise following a standardized protocol modified from Richalet (Lhuissier et al., 2012). Briefly, the test is made up of five consecutive phases of three to five minutes each: rest in normoxia (RN), rest in hypoxia (RH), exercise in hypoxia (EH) and exercise in normoxia (EN). The fifth and last phase was an exercise in normoxia associated with progressive incremental work so that HR reached the same value as during EH (EN+). Acute hypoxic conditions (4.800 m, e.g. $FiO_2 = 11.5\%$) were obtained using an $AltiTrainer_{200}$ (S.M. TEC, Geneva, Switzerland) connected to a nitrogen (N_2) gas bottle. The tests were conducted on an electrically braked cycloergometer (ER 900, Jaeger, Wuerzburg, Germany) at an exercise intensity corresponding to 50% of heart rate (HR) reserve during hypoxic exposures. The workload used during EH was similar than the one applied during EN. The subjects were asked to sustain a constant pedal rate of 70 rpm. V_E and HR were continuously recorded on a breath-by-breath basis. SaO_2 was assessed with a finger probe oximeter (PalmSat 2500, Nonin Medical, Inc., Minneapolis, USA).

2.2.3. Hemodynamic measurements

Throughout both tests, cardiac output (CO), stroke volume (SV) and HR were estimated by bio-impedancemetry (PhysioFlow PF-05, Manatec Biomedical, Macheren, France), a non-invasive method commonly used nowadays to determine cardiodynamic parameters at rest (Charloux et al., 2000; Tonelli et al., 2011) and during exercise (Tordi et al., 2004; Welsman et al., 2005). The relationship between peak CO derived from the impedance-based device and the direct Fick method has been shown to be high at rest ($r = 0.89$, $p < 0.001$), submaximal exercise ($r = 0.85$, $p < 0.001$) and maximal exercise ($r = 0.94$, $p < 0.01$). The PhysioFlow methodology has been described in detail elsewhere (Richard et al., 2001). Briefly, the bio-impedance method for determining CO uses transthoracic impedance changes (dZ) in response to an electrical current administered during cardiac ejection to calculate SV. After shaving and applying a mildly abrasive paste (Reegaponce, Bussy Saint-Georges, France) to the skin, two sets of electrodes, one transmitting and the other receiving, are applied above the supraclavicular fossa (left side) and along the xiphoid process of each subject. Another pair of electrodes is used to measure a single electrocardiogram signal (ECG). After an autocalibration over 30 heart beats, CO is then continuously calculated (beat-to-beat) by multiplying the stroke volume index (SVi) with the body surface area (BSA) and HR, which is obtained from the R–R interval determined on the ECG first derivative:

$$CO(L\,min^{-1}) = HR(beat\,min^{-1}) \times SVi(mL\ m^{-2}) \times BSA(m^2)$$

The same experimenter used this device and performed the hemodynamic recording throughout the study.

2.3. Data analysis

2.3.1. Ventilatory recruitment threshold and CO_2 sensitivity

The data from the rebreathing experiments were analyzed using Sigma Plot software version 12.3 (SPSS, Chicago, IL, USA) to calculate the main parameters describing chemoreflex-mediated ventilatory responses to CO_2 (i.e., the ventilatory recruitment threshold (VRT) and the CO_2 sensitivity (V_ES)). This data analysis was carried out using Duffin's method as a framework (Duffin et al., 2000). First, the three deep breaths used for equilibration as well as any abnormal breaths such as sighs or swallows while rebreathing were ignored in further analysis. On a breath-by-breath basis, V_E was plotted against $PetCO_2$ and the plots were then fitted into a piecewise double-linear regression (i.e., two continuous line segments). The first line segment was a constant representing the subject's basal ventilation (V_EB) and was used to extrapolate the VRT. The second one represented the progressive linear rise in V_E (due to an increase in $PetCO_2$) whose slope was considered to be an estimate of CO_2 responsiveness. The mathematical intersection of the two line segments represented the breaking point (VRT) at which V_E started to increase in a linear manner.

2.3.2. Hypoxic ventilatory responses

V_E, SaO_2 and HR values were averaged over the last minute of each phase. The hypoxic desaturation at rest (ΔSa_r) and exercise (ΔSa_e) were calculated as follows:

$$\Delta Sa_r(\%) = SaO2_{RN} - SaO2_{RH}$$

$$\Delta Sa_e(\%) = SaO2_{EN} - SaO2_{EH}$$

Then, the hypoxic ventilatory (HVR_r and HVR_e) and the hypoxic cardiac (HCR_r and HCR_e) responses were calculated as follows:

$$HVR_r(L\,min^{-1}\,kg^{-1}) = \frac{\dot{V}_{E_{RH}} - \dot{V}_{E_{RN}}}{\Delta Sa_r \cdot BW/100}$$

$$HVR_e(L\,min^{-1}\,kg^{-1}) = \frac{\dot{V}_{E_{EH}} - \dot{V}_{E_{EN}}}{\Delta Sa_e \cdot BW/100}$$

where BW represents body weight in kilograms.

$$HCR_r(bpm\,\%^{-1}) = \frac{HR_{RH} - HR_{RN}}{\Delta Sa_r}$$

$$HCR_e(bpm\,\%^{-1}) = \frac{HR_{EH} - HR_{EN}}{\Delta Sa_e}$$

For the same HR, the relative loss in power output (ΔPO_{rel}) between the two conditions was calculated as follows:

$$\Delta PO_{rel}(W\,\%^{-1}) = \frac{PO_{EN+} - PO_{EH}}{\Delta Sa_e}$$

2.3.3. Hemodynamic parameters

The hemodynamic baseline values were calculated as the average value over a 2-min period in each resting condition of the two tests. During hypercapnic testing, CO, SV and HR were calculated over three to five heartbeats for every 20 percent into the rebreathing test. During the hypoxic ventilory test, CO, SV and HR were averaged over the last minute of each phase. These data were used to calculate the CO and SV responses to hypoxia at rest ($HCOR_r$ and $HSVR_r$, respectively) as well as the CO and SV responses to hypoxia at exercise ($HCOR_e$ and $HSVR_e$, respectively), in the same manner as outlined above.

2.4. Statistical analysis

A prospective power analysis was used to calculate the required sample size (G*Power software version 3). In the present study, a change in HVR between two independent groups was considered as the key outcome variable. Due to a lack of information from studies involving HVR in BHDs, the means and standard deviations from Katayama et al. (2005) were used to calculate the sample size. Based on an assumption of type I error of 0.05 and type II error of 0.20 (power of 80%), 14 subjects (7 × 2) were required for the comparison of two independent groups (two-tailed unpaired *t*-test).

The samples were first tested for normality of distribution and homogeneity of variance with Shapiro–Wilk's test and Levene's test, respectively. Student's unpaired *t*-test was used to compare HCVR (VRT and V_ES) between BHDs and NDs, as well as HVR (HVR_r and HVR_e) and the cardiovascular responses to hypoxia (HCR, HCOR and HSVR at rest and during exercise). A two-way between-within ANOVA was conducted to compare hemodynamic parameters (CO, HR, and SV) between BHDs and NDs (between factors) across the two conditions (within factors, i.e., normoxia and hypoxia). Pearson's linear correlation analysis was performed to assess the relationships between HVR and the diving history of BHDs (years of apnea practice and best personal records). Statistical analysis and graphs were performed using Origin Pro software (OriginLab, Northampton, MA) and Sigma Plot software, respectively. Values are expressed as mean ± SD and a $p < 0.05$ level of statistical significance was used for all analyses.

Table 1
Anthropometric data of breath-hold divers (BHDs) and non-divers (NDs).

	Participants ($n = 14$)	
	BHDs ($n = 7$)	NDs ($n = 7$)
Age (years)	37.3 ± 12.8	31.9 ± 5.6
Height (cm)	177.9 ± 2.2	174.4 ± 9.4
Body bass (kg)	74.5 ± 8.4	70.9 ± 12.7
Body fat mass (%)	9.7 ± 3.8	10.5 ± 4.0
YAP (years)	14.8 ± 11.0	
BH training (h wk^{-1})	4.5 ± 2.3	
Dynamic PB (m)	153.3 ± 41.7	
Static PB (s)	361.5 ± 79.7	

Values are mean ± SD. BH, breath-holding; YAP, years of apnea practice; PB, personal best performance.

Table 2
Absolute baseline values and ventilatory responses to hypercapnia between both groups.

	Divers ($n = 7$)	Control group ($n = 7$)
Rebreathing test's baseline data		
$PetCO_2$ (mmHg)	36.7 ± 2.2	38.0 ± 2.6
V_EB (L min^{-1})	11.1 ± 3.5	12.4 ± 5.2
V_T (L)	0.90 ± 0.17	0.95 ± 0.25
F_r (b min^{-1})	14.1 ± 3.6	14.1 ± 4.1
Rebreathing test's parameters		
VRT (mmHg)	47.87 ± 1.87	48.35 ± 4.16
V_ES (L min^{-1} mmHg^{-1})	2.85 ± 1.41	1.85 ± 0.93

Values are means ± SD. $PetCO_2$, end-tidal CO_2 pressure; VEB, basal ventilation; VT, tidal volume; Fr, breathing frequency; VRT, ventilatory recruitment threshold; VES, carbon dioxide sensitivity.

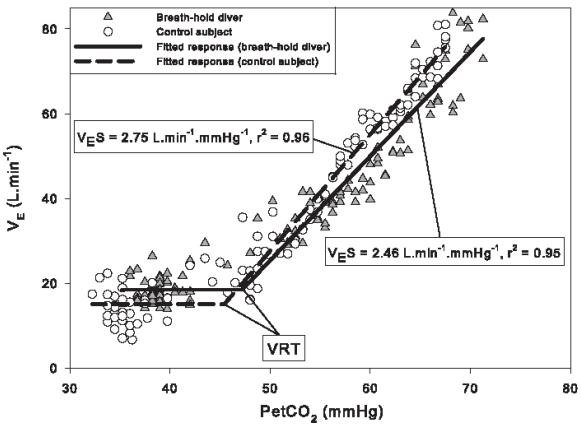


Fig. 1. Breath-by-breath ventilatory responses to hypercapnia in two representative subjects of each group. VRT, ventilatory recruitment threshold; V_ES, carbon dioxide sensitivity (slope); V_E, minute ventilation; $PetCO_2$, end-tidal CO_2 pressure; r^2, coefficient of determination.

3. Results

All participants successfully performed each test. The diving history of the BHDs and the anthropometric data of all subjects are shown in Table 1. Resting cardioventilatory data were similar between the two groups in both tests.

3.1. Rebreathing test

The HCVR of the two groups is summarized in Table 2. No difference was found in VRT and V_ES between BHDs and NDs (NS, Fig. 1). Likewise, there was no difference in cardiovascular responses to

Table 3
Hemodynamic and ventilatory responses to hypoxia at rest and at exercise between both groups.

	Divers (n = 7)	Control group (n = 7)
Rest		
ΔSa_r (%)	13.4 ± 4.6	14.7 ± 4.2
ΔVE_r (L min^{-1})	4.24 ± 1.75	1.21 ± 1.23*
HVR_r (L min^{-1} kg^{-1})	0.46 ± 0.19	0.14 ± 0.16**
HCR_r (bpm %$^{-1}$)	0.77 ± 0.69	0.87 ± 0.23
$HSVR_r$ (mL %$^{-1}$)	0.08 ± 0.50	0.35 ± 0.14
$HCOR_r$ (L min^{-1} %$^{-1}$)	0.08 ± 0.06	0.09 ± 0.02
Exercise		
ΔSa_e (%)	27.0 ± 1.1	29.9 ± 5.2
ΔVE_e (L min^{-1})	18.7 ± 6.1	12.5 ± 2.6*
HVR_e (L min^{-1} kg^{-1})	0.92 ± 0.22	0.63 ± 0.54*
HCR_e (bpm %$^{-1}$)	0.66 ± 0.12	0.81 ± 0.23
$HSVR_e$ (mL %$^{-1}$)	0.23 ± 0.23	0.28 ± 0.22
$HCOR_e$ (L min^{-1} %$^{-1}$)	0.10 ± 0.02	0.12 ± 0.04
ΔPO_{rel} (W %$^{-1}$)	1.9 ± 0.4	2.00 ± 0.4

Values are means ± SD. ΔSa_r, difference in arterial oxygen saturation between normoxic and hypoxic exposures at rest; ΔVE_r, difference in ventilation between normoxic and hypoxic exposures at rest; HVR_r, ventilatory response to hypoxia at rest; HCR_r, cardiac response to hypoxia at rest; $HSVR_r$, stroke volume response to hypoxia at rest; $HCOR_r$, cardiac output response to hypoxia at rest; ΔSa_e, difference in arterial oxygen saturation between normoxic and hypoxic exercise; ΔVE_e, difference in ventilation between normoxic and hypoxic exercise; HVR_e, ventilatory response to hypoxia at exercise; HCR_e, cardiac response to hypoxia at exercise; $HSVR_e$, stroke volume response to hypoxia at exercise; $HCOR_e$, cardiac output response to hypoxia at exercise; ΔPO_{rel}, relative loss of power output between normoxic and hypoxic exercise.
* $p < 0.05$ between the divers and the control group.
** $p < 0.01$ between the divers and the control group.

hypercapnia between groups regardless of the time-point during the rebreathing test.

3.2. Hypoxic ventilatory test

During hypoxic exposure, BHDs and NDs had similar drops in SaO_2 both at rest (13.8 ± 4.6 vs. 15.3 ± 4.4%, respectively; NS) and during exercise (27.6 ± 2.7 vs. 31.8 ± 5.5%, respectively; NS) (Table 3). During rest in hypoxia, BHDs had a more pronounced increase in V_E compared to their respective normoxic values (RN: 10.0 ± 2.4 L min^{-1}; RH: 14.2 ± 3.4 L min^{-1}) than in NDs (RN: 12.7 ± 2.3 L min^{-1}; RH: 13.6 ± 2.4 L min^{-1}) (Table 3). During exercise in hypoxia, BHDs had a more pronounced increase in V_E compared to their respective normoxic values (EN: 34.3 ± 4.1 L min^{-1}; EH: 53.0 ± 8.7 L min^{-1}) than in NDs (EN: 30.6 ± 7.8 L min^{-1}; EH: 43.1 ± 6.7 L min^{-1}) (Table 3). Consequently, percentage changes from respective normoxic values showed a more pronounced increase in V_E in BHDs than in NDs at rest in hypoxia (29.7 ± 7.4 vs. 8.6 ± 8.2%, respectively; $p < 0.05$ between groups) and during exercise in hypoxia (34.7 ± 6.4 vs. 29.8 ± 8.6%, respectively; $p < 0.05$ between groups) (Fig. 2); this resulted in increased HVR_r (+68%) and HVR_e (+31%). However, no correlation was found between either HVR_r or HVR_e and the diving history in BHDs.

In both groups, CO, HR, and SV reached higher values from their respective normoxic conditions, except for SV at rest in BHDs (Fig. 3a and b). In addition, ANOVA showed a significant interaction for CO and HR (only during exercise) between groups and conditions ($p < 0.05$; Fig. 3b). Indeed, BHDs had a less pronounced increase in HR during exercise in hypoxia compared to their respective normoxic values (EN: 103.7 ± 12.3 bpm; EH: 121.6 ± 14.1 bpm) than in NDs (EN: 103.6 ± 8.2 bpm; EH 127 ± 8.1 bpm) (Fig. 3b). Consequently, BHDs showed a lower increase in CO during exercise in hypoxia compared to their respective normoxic values (EN: 10.7 ± 2.3 L min^{-1}; EH: 13.2 ± 2.0 L min^{-1}) than in NDs (EN: 10.0 ± 1.6 L min^{-1}; EH: 13.4 ± 1.4 L min^{-1}) (Fig. 3b). However, VES

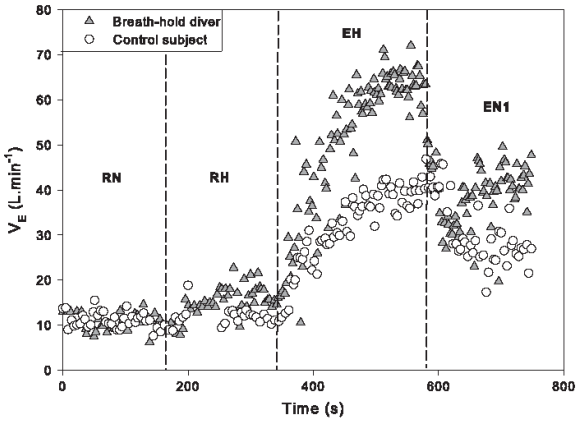


Fig. 2. Breath-by-breath ventilatory responses to hypoxia at rest and during exercise in two representative subjects of each group. RN, rest in normoxia; RH, rest in hypoxia; EH, exercise in hypoxia; EN1, exercise in normoxia.

was similar during exercise in hypoxia between BHDs (EN: 104 ± 27.9 mL; EH: 110.3 ± 23.5 mL) and NDs (EN: 97.1 ± 12.3 mL; EH: 104.3 ± 10.3 mL) (Fig. 3b). The workloads were similar between BHDs and NDs during EH (80.0 ± 14.4 vs. 77.1 ± 11.1 W, respectively; NS) and during EN+ (131.4 ± 16.8 vs. 135.7 ± 14.0 W, respectively; NS). $HCOR_r$, $HCOR_e$, HCR_r, HCR_e, $HSVR_r$, $HSVR_e$ and ΔPO_{rel} were similar between groups (Table 3).

4. Discussion

The main finding of the present study was that breath-hold divers showed a more pronounced HVR during a poikilocapnic hypoxic test than NDs did. This enhancement of chemo-responsiveness to hypoxia was observed at rest and during exercise. However, both groups showed similar ventilatory responses to hypercapnia as no difference was found in VRT or V_ES. To our knowledge, this is the first investigation reporting a significant increase in poikilocapnic HVR at rest and during exercise in BHDs. Few previous studies focusing on HVR in trained BHDs have reported normal or blunted HVR (Foster and Sheel, 2005), but most of these subjects were assessed at rest while breathing an isocapnic hypoxic mixture (Breskovic et al., 2010a, 2010b; Masuda et al., 1982). Only one study reported both HVR_e and HVR_r using poikilocapnic hypoxia; however, genetic factors might have been involved as the BHDs (one man and two women) were from the same family (Grassi et al., 1994). In the present study, data were collected just at the end of the training season and this may potentially explain the increased HVR, as the number of hypoxic exposures induced by BH is supposed to be at its highest in this particular period. Indeed, the beginning of a standard training season for BHDs is mostly made up of hypercapnic challenges, whereas hypoxic challenges are usually performed at the end of the training season.

Despite HVR variability among healthy individuals (Sahn et al., 1977), it is noteworthy that the increased HVR in our BHDs remained within the range of values from studies reporting a beneficial effect following IHE in healthy humans (Teppema and Dahan, 2010). Moreover, mean HVR_e reached a value ≥0.8 L min kg^{-1} in the BHDs, a sensitivity threshold considered as an indicator of high chemo-responsiveness (Richalet et al., 2009). It was recently shown that HVR_e may be used in routine evaluation of tolerance to hypoxia as its intra-individual variability is lower than that of HVR_r (Lhuissier et al., 2012). The increase HVR observed in BHDs indirectly supports the results of Feiner et al. who have demonstrated that magnitude of HVR, but not HCVR, was a significant predictor of

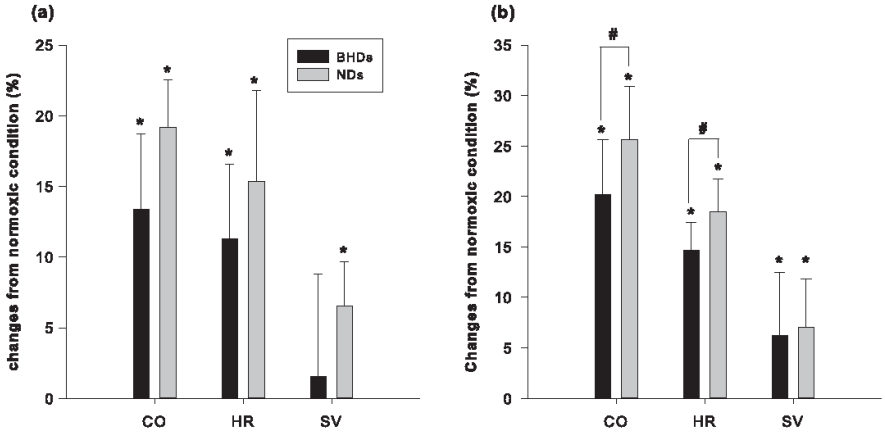


Fig. 3. (a) and (b) Changes in hemodynamic parameters induced by hypoxia from normoxic condition at rest (panel a) and during exercise (panel b) between the two groups. CO, cardiac output; HR, heart rate; SV, stroke volume; $^{*}p < 0.05$ versus respective normoxic condition; $\#p < 0.05$ between groups.

BH performance (Feiner et al., 1995). In our view, the increased HVR could possibly be explained by the physiological changes induced by BH training. Indeed, it is now well established that during prolonged BH, a stimulation of peripheral chemoreceptor occurs at the physiological breakpoint due to progressive changes in oxygen and carbon dioxide concentration (Parkes, 2006). Moreover, some studies have reported end-tidal oxygen partial pressure that reached values ranging from 20 to 40 mmHg at the conventional breakpoint, i.e., at the end of BH (Ferretti et al., 1991; Lindholm and Lundgren, 2006; Overgaard et al., 2006). Similarly to the ventilatory adaptations induced by IHE, the progressive decrease in the partial pressure of oxygen while in BH could elicit a potentiation of carotid body chemosensitivity, resulting in increased HVR in trained BHDs. However, IHE-induced increased HVR is usually characterized by increases in both SaO_2 and V_E (Katayama et al., 2001), which was not the case in the present study (Table 3) nor in a recent work following short-term IHE (Wille et al., 2012). Thus, the increase observed only in V_E but not in SaO_2 partially supports our initial hypothesis. Previous works have shown that high V_E demand requires excessive respiratory power sustained by the respiratory muscles (Cibella et al., 1996; Verges et al., 2010). Therefore, it is likely that the higher V_E in the BHDs than NDs might have enhanced their respiratory energy cost, and this would potentially explain the similarities in SaO_2 between the two groups.

In both groups, cardiovascular responses to acute hypoxia showed a rapid increase in HR at rest and during exercise, and consequently in CO; this is an essential mechanism in healthy subjects to counteract the decrease in SaO_2 and normalize oxygen delivery to tissues (Naeije, 2010). ANOVA revealed that the increases in HR and CO were less pronounced during exercise in BHDs than they were in NDs (Fig. 3b). Very similar hemodynamic adjustments during submaximal exercise in hypoxia have already been reported in studies following IHE (Katayama et al., 2007) and this lower blood flow likely helps to improve the transit time of the erythrocytes in the pulmonary capillary (Bender et al., 1989). Previous studies have highlighted that repeated BH-induced intermittent hypoxia trigger an increased diving response (Schagatay et al., 2000) as well as an enhancement of hemoglobin concentration due to both splenic contractions (Bakovic et al., 2005; Schagatay et al., 2001) and erythropoiesis (de Bruijn et al., 2008). These protective mechanisms against hypoxia may explain the lower increase in CO during hypoxic exercise in BHDs. However, it should be noted that the formulation of the cardiovascular responses to hypoxia as a function of SaO_2 (HCOR, HCR, and HSVR) did not highlight any statistically differences between BHDs and NDs at rest or during exercise.

It has long been thought that BHDs have reduced HCVR, which may delay the occurrence of the physiological breakpoint and ultimately help to prolong the breath-holding time (Ferretti and Costa, 2003). This should be called into question since the current literature shows conflicting results concerning HCVR, i.e., blunted and normal responses are reported in BHDs. In our view, these discrepancies may be due to the methods used to measure chemosensitivity (steady-state vs. rebreathing method) and differences in the training levels of the BHDs among studies. BHDs and NDs had similar ventilatory and cardiovascular responses to hypercapnia in the present study. This is in accordance with the only previous work that evaluated both these aspects under similar experimental conditions (Dujic et al., 2008). Likewise, it was shown that the short-term training effect of five repeated BH did not affect HCVR (Andersson and Schagatay, 2009). Besides, very few investigations to date have focused on the effects following intermittent hypercapnic hypoxia in healthy humans (Joulia et al., 2003; Woorons et al., 2008) and, unfortunately, none of them assessed the outcomes on HCVR or HVR.

Various methods are cited in the literature to assess HVR. Most studies have predominantly used isocapnic hypoxic tests to isolate peripheral chemoreceptor sensitivity. In this study, a poikilocapnic hypoxic test, i.e., CO_2 concentration remains not controlled throughout the test, was preferred to assess both HVR_r and HVR_e. Although the mechanisms are more complex at the physiological level (Steinback and Poulin, 2007), the test we used is closer to real altitude conditions (Brugniaux et al., 2006). Accordingly, poikilocapnic HVR measurement but not isocapnic measurement was deemed more appropriate to test the present research hypothesis.

5. Methodological considerations

The study is mainly based on ventilatory and cardiovascular similarities between IHE and BH-induced intermittent hypoxia. Although both methods induce hypoxia, BH is in addition associated with a progressive rise in CO_2 partial pressure. This major difference has already been pointed out in other investigations using intermittent hypoxia as a model to mimic obstructive sleep apnea (Brugniaux et al., 2011). Nevertheless, the present study

showed that repeated bouts of hypercapnic challenge induced by BH do not appear to modify HCVR.

6. Conclusion and perspectives

In summary, our observations suggest that BHDs present high chemo-responsiveness to poikilocapnic hypoxia without an altered ventilatory response to hypercapnia. This suggests that BH training and its consequent repeated bouts of hypoxia could elicit ventilatory and cardiovascular adjustments fairly similar to those of IHE. These early results are encouraging but further investigations involving specific BH training are essential to clarify its physiological effects in healthy subjects, as well as its similarities with other protocols involving intermittent hypoxia.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgments

The investigators would like to thank the divers for their enthusiastic participation in this study and Frank Bour for his technical assistance with the PhysioFlow PF-05 device. We also thank Catherine Carmeni for help in preparing the manuscript.

References

Andersson, J.P., Schagatay, E., 2009. Repeated apneas do not affect the hypercapnic ventilatory response in the short term. Eur. J. Appl. Physiol. 105, 569–574.
Bakovic, D., Eterovic, D., Saratlija-Novakovic, Z., Palada, I., Valic, Z., Bilopavlovic, N., Dujic, Z., 2005. Effect of human splenic contraction on variation in circulating blood cell counts. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 32, 944–951.
Bender, P.R., McCullough, R.E., McCullough, R.G., Huang, S.Y., Wagner, P.D., Cymerman, A., Hamilton, A.J., Reeves, J.T., 1989. Increased exercise SaO_2 independent of ventilatory acclimatization at 4300 m. J. Appl. Physiol. 66, 2733–2738.
Bjurstrom, R.L., Schoene, R.B., 1987. Control of ventilation in elite synchronized swimmers. J. Appl. Physiol. 63, 1019–1024.
Breskovic, T., Ivancev, V., Banic, I., Jordan, J., Dujic, Z., 2010a. Peripheral chemoreflex sensitivity and sympathetic nerve activity are normal in apnea divers during training season. Auton. Neurosci. 154, 42–47.
Breskovic, T., Valic, Z., Lipp, A., Heusser, K., Ivancev, V., Tank, J., Dzamonja, G., Jordan, J., Shoemaker, J.K., Eterovic, D., Dujic, Z., 2010b. Peripheral chemoreflex regulation of sympathetic vasomotor tone in apnea divers. Clin. Auton. Res. 20, 57–63.
Brugniaux, J.V., Pialoux, V., Foster, G.E., Duggan, C.T., Eliasziw, M., Hanly, P.J., Poulin, M.J., 2011. Effects of intermittent hypoxia on erythropoietin, soluble erythropoietin receptor and ventilation in humans. Eur. Respir. J. 37, 880–887.
Brugniaux, J.V., Schmitt, L., Robach, P., Jeanvoine, H., Zimmermann, H., Nicolet, G., Duvallet, A., Fouillot, J.P., Richalet, J.P., 2006. Living high-training low: tolerance and acclimatization in elite endurance athletes. Eur. J. Appl. Physiol. 96, 66–77.
Charloux, a., Lonsdorfer-Wolf, E., Richard, R., Lampert, E., Oswald-Mammosser, M., Mettauer, B., Geny, B., Lonsdorfer, J., 2000. A new impedance cardiograph device for the non-invasive evaluation of cardiac output at rest and during exercise: comparison with the direct Fick method. Eur. J. Appl. Physiol. 82, 313–320.
Cibella, F., Cuttitta, G., Kayser, B., Narici, M., Romano, S., Saibene, F., 1996. Respiratory mechanics during exhaustive submaximal exercise at high altitude in healthy humans. J. Physiol. 494, 881–890.
Davis, F.M., Graves, M.P., Guy, H.J., Prisk, G.K., Tanner, T.E., 1987. Carbon dioxide response and breath-hold times in underwater hockey players. Undersea Biomed. Res. 14, 527–534.
de Bruijn, R., Richardson, M., Schagatay, E., 2008. Increased erythropoietin concentration after repeated apneas in humans. Eur. J. Appl. Physiol. 102, 609–613.
Delapille, P., Verin, E., Tourny-Chollet, C., 2001. Ventilatory responses to hypercapnia in divers and non-divers: effects of posture and immersion. Eur. J. Appl. Physiol., 97–103.
Duffin, J., Mohan, R.M., Vasiliou, P., Stephenson, R., Mahamed, S., 2000. A model of the chemoreflex control of breathing in humans: model parameters measurement. Respir. Physiol. 120, 13–26.
Dujic, Z., Ivancev, V., Heusser, K., Dzamonja, G., Palada, I., Valic, Z., Tank, J., Obad, A., Bakovic, D., Diedrich, A., Joyner, M.J., Jordan, J., 2008. Central chemoreflex sensitivity and sympathetic neural outflow in elite breath-hold divers. J. Appl. Physiol. (1985) 104, 205–211.
Feiner, J.R., Bickler, P.E., Severinghaus, J.W., 1995. Hypoxic ventilatory response predicts the extent of maximal breath-holds in man. Respir. Physiol. 100, 213–222.
Ferretti, G., Costa, M., 2003. Diversity in and adaptation to breath-hold diving in humans. Comp. Biochem. Physiol. A: Mol. Integr. Physiol. 136, 205–213.
Ferretti, G., Costa, M., Ferrigno, M., Grassi, B., Marconi, C., Lundgren, C.E., Cerretelli, P., 1991. Alveolar gas composition and exchange during deep breath-hold diving and dry breath holds in elite divers. J. Appl. Physiol. 70, 794–802.
Florio, J.T., Morrison, J.B., Butt, W.S., 1979. Breathing pattern and ventilatory response to carbon dioxide in divers. J. Appl. Physiol. 46, 1076–1080.
Foster, G.E., McKenzie, D.C., Milsom, W.K., Sheel, A.W., 2005. Effects of two protocols of intermittent hypoxia on human ventilatory, cardiovascular and cerebral responses to hypoxia. J. Physiol. 567, 689–699.
Foster, G.E., Sheel, A.W., 2005. The human diving response, its function, and its control. Scand. J. Med. Sci. Sports 15, 3–12.
Grassi, B., Ferretti, G., Costa, M., Ferrigno, M., Panzacchi, A., Lundgren, C.E., Marconi, C., Cerretelli, P., 1994. Ventilatory responses to hypercapnia and hypoxia in elite breath-hold divers. Respir. Physiol. 97, 323–332.
Ivancev, V., Palada, I., Valic, Z., Obad, A., Bakovic, D., Dietz, N.M., Joyner, M.J., Dujic, Z., 2007. Cerebrovascular reactivity to hypercapnia is unimpaired in breath-hold divers. J. Physiol. 582, 723–730.
Joulia, F., Steinberg, J.G., Faucher, M., Jamin, T., Ulmer, C., Kipson, N., Jammes, Y., 2003. Breath-hold training of humans reduces oxidative stress and blood acidosis after static and dynamic apnea. Respir. Physiol. Neurobiol. 137, 19–27.
Katayama, K., Sato, K., Hotta, N., Ishida, K., Iwasaki, K., Miyamura, M., 2007. Intermittent hypoxia does not increase exercise ventilation at simulated moderate altitude. Int. J. Sports Med. 28, 480–487.
Katayama, K., Sato, K., Matsuo, H., Hotta, N., Sun, Z., Ishida, K., Iwasaki, K.-I., Miyamura, M., 2005. Changes in ventilatory responses to hypercapnia and hypoxia after intermittent hypoxia in humans. Respir. Physiol. Neurobiol. 146, 55–65.
Katayama, K., Sato, Y., Morotome, Y., Shima, N., Ishida, K., Mori, S., Miyamura, M., 2001. Intermittent hypoxia increases ventilation and $Sa(O_2)$ during hypoxic exercise and hypoxic chemosensitivity. J. Appl. Physiol. 90, 1431–1440.
Lemaître, F., Joulia, F., Chollet, D., 2010. Apnea: a new training method in sport? Med. Hypotheses 74, 413–415.
Lhuissier, F.J., Brumm, M., Ramier, D., Richalet, J.P., 2012. Ventilatory and cardiac responses to hypoxia at submaximal exercise are independent of altitude and exercise intensity. J. Appl. Physiol. 112, 566–570.
Lindholm, P., Lundgren, C.E., 2006. Alveolar gas composition before and after maximal breath-holds in competitive divers. Undersea Hyperb. Med. 33, 463–467.
Lindholm, P., Lundgren, C.E., 2009. The physiology and pathophysiology of human breath-hold diving. J. Appl. Physiol. 106, 284–292.
Masuda, Y., Yoshida, A., Hayashi, F., Sasaki, K., Honda, Y., 1981. The ventilatory responses to hypoxia and hypercapnia in the Ama. Jpn. J. Physiol. 31, 187–197.
Masuda, Y., Yoshida, A., Hayashi, F., Sasaki, K., Honda, Y., 1982. Attenuated ventilatory responses to hypercapnia and hypoxia in assisted breath-hold drivers (Funado). Jpn. J. Physiol. 32, 327–336.
Naeije, R., 2010. Physiological adaptation of the cardiovascular system to high altitude. Prog. Cardiovasc. Dis. 52, 456–466.
Overgaard, K., Friis, S., Pedersen, R.B., Lykkeboe, G., 2006. Influence of lung volume, glossopharyngeal inhalation and $P(ET)\ O_2$ and $P(ET)\ CO_2$ on apnea performance in trained breath-hold divers. Eur. J. Appl. Physiol. 97, 158–164.
Parkes, M.J., 2006. Breath-holding and its breakpoint. Exp. Physiol. 91, 1–15.
Read, D.J., 1967. A clinical method for assessing the ventilatory response to carbon dioxide. Australas. Ann. Med. 16, 20–32.
Richalet, J.P., Gimenez-Roqueplo, A.P., Peyrard, S., Venisse, A., Marelle, L., Burnichon, N., Bouzamondo, A., Jeunemaitre, X., Azizi, M., Elghozi, J.L., 2009. A role for succinate dehydrogenase genes in low chemoresponsiveness to hypoxia? Clin. Auton. Res. 19, 335–342.
Richard, R., Lonsdorfer-Wolf, E., Charloux, A., 2001. Non-invasive cardiac output evaluation during a maximal progressive exercise test, using a new impedance cardiograph device. Eur. J. Appl. Physiol. 85, 202–207.
Sahn, S.A., Zwillich, C.W., Dick, N., McCullough, R.E., Lakshminarayan, S., Weil, J.V., 1977. Variability of ventilatory responses to hypoxia and hypercapnia. J. Appl. Physiol. 43, 1019–1025.
Schagatay, E., Andersson, J.P., Hallen, M., Palsson, B., 2001. Selected contribution: role of spleen emptying in prolonging apneas in humans. J. Appl. Physiol. 90, 1623–1629.
Schagatay, E., van Kampen, M., Emanuelsson, S., Holm, B., 2000. Effects of physical and apnea training on apneic time and the diving response in humans. Eur. J. Appl. Physiol. 82, 161–169.
Steinback, C.D., Poulin, M.J., 2007. Ventilatory responses to isocapnic and poikilocapnic hypoxia in humans. Respir. Physiol. Neurobiol. 155, 104–113.
Teppema, L.J., Dahan, A., 2010. The ventilatory response to hypoxia in mammals: mechanisms, measurement, and analysis. Physiol. Rev. 90, 675–754.
Tonelli, A.R., Alnuaimat, H., Li, N., Carrie, R., Mubarak, K.K., 2011. Value of impedance cardiography in patients studied for pulmonary hypertension. Lung 189, 369–375.
Tordi, N., Mourot, L., Matusheski, B., Hughson, R.L., 2004. Measurements of cardiac output during constant exercises: comparison of two non-invasive techniques. Int. J. Sports Med. 25, 145–149.
Verges, S., Bachasson, D., Wuyam, B., 2010. Effect of acute hypoxia on respiratory muscle fatigue in healthy humans. Respir. Res. 11, 1465–9921.
Welsman, J., Bywater, K., Farr, C., Welford, D., Armstrong, N., 2005. Reliability of peak VO(2) and maximal cardiac output assessed using thoracic bioimpedance in children. Eur. J. Appl. Physiol. 94, 228–234.
Wille, M., Gatterer, H., Mairer, K., Philippe, M., Schwarzenbacher, H., Faulhaber, M., Burtscher, M., 2012. Short-term intermittent hypoxia reduces the severity of acute mountain sickness. Scand. J. Med. Sci. Sports 22, 1600–1838.

Woorons, X., Bourdillon, N., Vandewalle, H., Lamberto, C., Mollard, P., Richalet, J.P., Pichon, A., 2010. Exercise with hypoventilation induces lower muscle oxygenation and higher blood lactate concentration: role of hypoxia and hypercapnia. Eur. J. Appl. Physiol. 110, 367–377.

Woorons, X., Mollard, P., Pichon, A., Duvallet, A., Richalet, J.P., Lamberto, C., 2007. Prolonged expiration down to residual volume leads to severe arterial hypoxemia in athletes during submaximal exercise. Respir. Physiol. Neurobiol. 158, 75–82.

Woorons, X., Mollard, P., Pichon, A., Duvallet, A., Richalet, J.P., Lamberto, C., 2008. Effects of a 4-week training with voluntary hypoventilation carried out at low pulmonary volumes. Respir. Physiol. Neurobiol. 160, 123–130.

Article n°4

International Journal of Cardiology 168 (2013) e138–e141

Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Cardiology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijcard

Letter to the Editor

Plasma adenosine release is associated with bradycardia and transient loss of consciousness during experimental breath-hold diving

Fabrice Joulia [a,h], Mathieu Coulange [a,b], Frederic Lemaitre [c], Guillaume Costalat [c], Frederic Franceschi [a,d], Vlad Gariboldi [a,e], Laetitia Nee [a,f], Julien Fromonot [a,f], Laurie Bruzzese [a], Gilles Gravier [a], Nathalie Kipson [a], Yves Jammes [a], Alain Boussuges [a,g], Michele Brignole [h], Jean Claude Deharo [a,d], Régis Guieu [a,g,*]

[a] UMR MD2, Aix Marseille University and IRBA, Faculty of Medicine, Marseille, France
[b] Department of Hyperbaric Medicine, Sainte Marguerite Hospital, Marseille, France
[c] ŒTAPS, EA 3832 Faculty of Sport Sciences, University of Rouen, Rouen, France
[d] Department of Cardiology, Timone University Hospital, Marseille, France
[e] Department of Cardiac Surgery, Timone University Hospital, Marseille, France
[f] Department of Intensive Care, Timone University Hospital, Marseille, France
[g] IRBA, Defense Ministry, Bretigny sur Orge, France
[h] Department of Cardiology, Syncope Unit, Lavagna, Italy

ARTICLE INFO

Article history:
Received 5 May 2013
Received in revised form 9 August 2013
Accepted 18 August 2013
Available online 27 August 2013

Keywords:
Adenosine
Bradycardia
Transcient loss of consciousness
Breath-hold diving

During breath-hold diving, transient loss of consciousness (T-LOC) is frequent [1,2]. During competition, T-LOCs resolve without sequelae due to quick rescue by the medical staff. However, in the absence of supervision, like during spare time activities, the consequences of T-LOC might expose subjects to the risk of drowning and death.

Adenosine is implicated in the mechanism of some forms of T-LOC like vasovagal syncope (VVS, [3,4]). Adenosine is a purine derivative that comes from the dephosphorylation of ATP and that strongly impacts the cardiovascular system via the activation of four G-protein coupled receptors namely A_1 R, A_{2A} R, A_{2B} R, and A_3 R, depending on their pharmacological properties [5]. The activation of A_1 R leads mostly to bradycardia while the activation of A_{2A} R leads to vasodilation [5,6]. High adenosine plasma concentration (APC) is associated with T-LOC because of bradycardia and/or vasodilation. T-LOC during breath-hold diving is secondary to hypoxemia [2]. Hypoxemia leads to a release of adenosine in the extracellular spaces [7], which may participate in the occurrence of T-LOC. The aim of this study was to evaluate the kinetics of APC in elite breath-hold divers with or without previous breath-hold induced T-LOC events, during experimental breath-holding.

Twenty international breath-hold divers (19 men and one woman, mean age 37 ± 8 years), who participated in the 2012 free diving world championship in Nice, France, voluntarily accepted to be included in the study and gave written informed consent and the study was approved by the local ethics committee. The authors of this manuscript have certified that they comply with the principles of Ethical Publishing in the International Journal of Cardiology. Ten non-diver subjects from our medical staff (9 men and 1 woman, mean age 38 ± 9 years) served as controls for basal APC measurement.

Six ECG leads, systolic blood pressure (SBP), and diastolic blood pressure (DBP) were monitored and recorded continuously. Arterial blood oxygen saturation (SpO_2) was measured continuously with a pulse oximeter fixed on the left median finger. An intravenous catheter was inserted before the onset of the experiment for safety reasons and blood sampling.

Subjects began the experiment by resting and breathing normally in ambient room conditions (25 ± 2 °C) for 10 min. After this resting period, control values were assessed and blood samples were collected. Then, subjects were asked to perform a sequence of five short static breath-holdings separated by 5-min recovery periods as warm-up. These short breath-holds were used as a warm-up to maximize the diving reflex and to decrease the stress effect.

Then subjects were instructed to perform a single sub maximal static breath-hold, then rested lying on their back to recover for 10 min.

Breath-hold divers and control subjects were placed in the supine position during sample collection. Control subjects did not perform breath-hold. For divers, venous blood samples were collected at rest before the warm-up (basal, T0), at the end of the maximal static breath-hold (T1), and after 10 min of recovery (T2). Blood samples were collected and processed as described previously [4,8] and APC was determined as previously described [4,8].

Quantitative variables were expressed using median and interquartile range (IQR) values. Correlation between APC and quantitative variables

* Corresponding author at: UMR MD2, Aix Marseille University, Faculty of Medicine, Bvd P Dramard, 13015 Marseille, France. Tel.: +33 4 91 38 56 50; fax: +33 4 91 38 56 12.
E-mail address: guieu.regis@orange.fr (R. Guieu).

0167-5273/$ – see front matter © 2013 Published by Elsevier Ireland Ltd.
http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2013.08.053

Table 1
Characteristics of subjects included in the study. Subjects were asked to perform a submaximal static breath-hold.

Subjects	Age (years)	Weight (Kg)	Height (cm)	Apnea practice (years)	Number of T-IOC during the past 2 years	Experimental apnea (sec)	HR T0	HR T1	HR T2	SBP T0	SBP T1	SBP T2	DBP T0	DBP T1	DBP T2	SpO_2 T0	SpO_2 T1	SpO_2 T2
1	36	84	192	6	4	225	72	45	73	126	145	125	86	89	83	100	91	99
2	34	74	182	13	3	225	72	50	71	138	159	137	78	93	73	99	90	100
3	26	69	176	20	0	150	75	72	80	138	182	138	61	75	66	99	88	99
4	43	62	163	19	0	300	69	67	70	140	192	140	80	90	80	100	92	99
5	51	82	169	40	0	225	71	70	69	138	146	138	61	75	63	98	91	99
6	36	72	176	8	3	225	69	46	70	138	145	136	79	85	80	99	91	100
7	35	73	184	2	0	225	70	60	70	128	140	130	83	90	78	100	89	99
8	31	74	181	16	0	187	78	80	80	125	150	124	86	90	85	99	90	99
9	36	71	180	2	1	262	72	56	80	134	163	134	85	100	85	99	86	99
10	32	74	181	12	2	225	75	70	70	130	140	127	60	65	65	100	78	99
11	45	105	184	10	0	225	80	78	76	121	145	122	60	48	58	98	91	100
12	46	85	190	22	0	300	80	76	78	125	135	125	58	70	60	100	84	99
13	40	69	175	30	2	225	60	50	80	135	155	137	83	90	80	99	79	100
14	34	60	166	2	1	375	60	45	67	111	130	112	57	68	60	99	92	99
15	35	88	187	29	0	300	75	55	65	124	153	125	68	90	70	100	90	98
16	30	77	185	15	3	375	56	50	60	107	144	108	70	76	70	99	80	99
17	41	92	188	24	1	300	71	60	69	148	163	145	78	87	75	99	88	99
18	53	88	178	37	5	337	69	48	70	124	124	123	69	71	72	100	74	99
19	27	74	175	15	0	375	63	50	77	128	181	135	69	110	70	98	79	100
20	25	68	170	5	1	300	70	70	68	138	166	138	65	78	60	100	73	100
Median	33.5	74	180.5	15	1	243.5	71	58	70	129.5	149.5	132	69.5	86	71	99	82	99
IQR	31–44	69.5–84.7	175–193	6.5–23.5	0–2.75	225–300	69–75	50–70	69–77.5	124–138	141–163	124.3–137.8	61–82.5	72–90	62.5–80	99–100	75–89.7	99–100

HR: heart rate SpO_2: blood pressure, and APC were evaluated before apnea (T0), at the end of apnea (T1), and after 10 min of recuperation. SpO_2: pulsatile saturation in arterial O2 APC: adenosine plasma concentration; SBP: systolic blood pressure DBP: diastolic blood pressure; IQR: interquartile range.

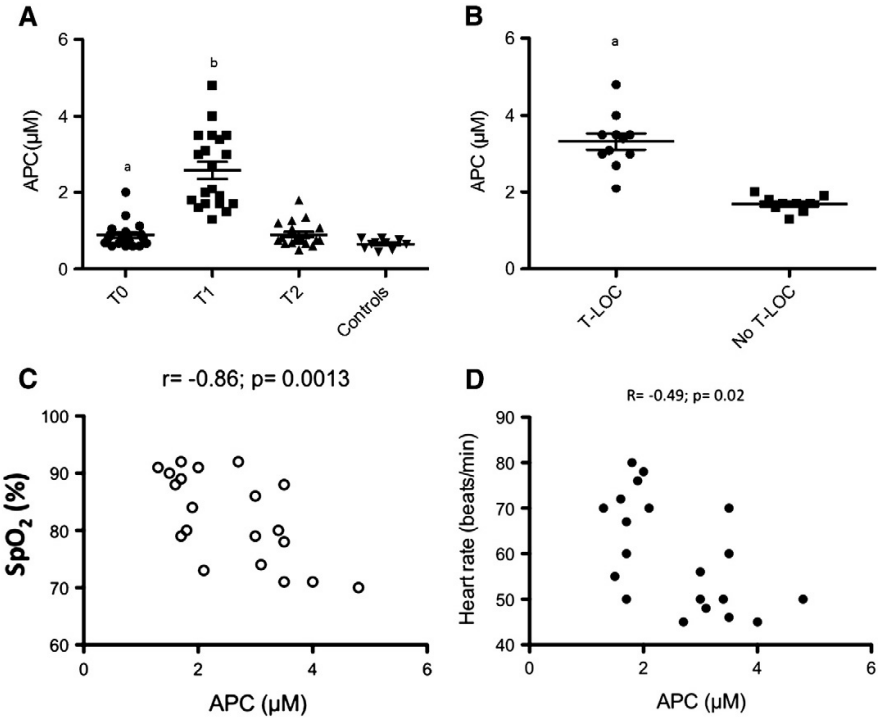


Fig. 1. A. Adenosine plasma concentration (APC) in the diver population (n = 20) in basal state (T0), at the end of the breath-holding (T1), and after 10 min of recovery (T2); a: $p < 0.05$ compared with controls; b: $p < 0.01$ compared with T0 or T2. Divers were asked to perform a submaximal static breath-holding. B. Adenosine plasma concentration (APC) at the end of breath-holding evaluated in the two groups of divers. a: $p < 0.001$. Divers were asked to perform a sub maximal static breath-holding. T-LOC: divers with previous transcient loss of consciousness during diving. C–D. Correlation (Spearman's R) between adenosine plasma concentration (APC) and Sp02 (Fig. 1-C) and heart rate (HR, Fig. 1-D) in 20 divers, during experimental breath-holding. APC was evaluated at the end of the breath-holding experimental procedure.

was assessed using the Spearman test. Quantitative variables were compared using the non-parametric Mann–Whitney *U* test. The non-parametric Wilcoxon test was used for intra individual comparisons. Statistical tests were two-sided and P-values less than 0.05 were considered significant.

Characteristics of breath-hold divers are given in Table 1. Breath-hold divers were separated into two groups: 11 had already experienced at least one episode of loss of consciousness (T-LOC divers) during the previous 2 years; 9 had never experienced any episode of loss of consciousness (non T-LOC divers). T-LOC divers and non T-LOC divers had similar age, weight, size, breath-hold performance, and breath-hold duration practice. None of the subjects had T-LOC during the experimental breath-hold.

In basal conditions (T0), heart rate (HR) was lower in the T-LOC divers than in the non T-LOC divers (median [IQR]: 70 [60–72] vs 75 [69.5–79]; $p = 0.05$). At the end of the breath-hold period, HR and SpO_2 were lower than basal values (HR: 71 bpm [69–75] vs 58 bpm [50–70], $p < 0.01$; SpO_2: 99% [98–100] vs 82% [75–89.7], $p < 0.01$). HR decreased much more in the T-LOC group than in the non T-LOC group (50 bpm [46–60] vs 70 bpm [57.5–77], $p < 0.01$).

DBP and SBP were higher than basal values (DBP: 69.5 mm Hg [61–82.5] vs 86 mm Hg [72–90], $p = 0.01$; SBP: 129.5 mm Hg [124–138] vs 149.5 mm Hg [141–163], $p < 0.01$). No significant difference was found in SBP or DPB between the T-LOC group and the non T-LOC divers either at baseline or during breath-holding. The T-LOC group and the non T-LOC group did not differ significantly in SpO_2 at the end of breath-holding (78 [71–86] vs 89 [82–91], $p = 0.07$). Blood pressure and SpO_2 returned to baseline values within 10 min after the test.

Baseline APC was higher in divers than in controls (0.82 µM [0.67–0.95] vs 0.67 µM [0.53–0.76], $p = 0.04$; Fig. 1A). However, this difference was restricted to the T-LOC divers (0.9 µM [0.82–1.12], $p = 0.01$). The Non T-LOC divers had APC values similar to controls (0.68 µM [0.63–0.86], $p = 0.1$ ns). At the end of breath-hold, APC increased significantly in all divers, compared with basal 2.4 µM [1.7–3.4], $p < 0.01$ (Fig. 1A), but the increase was much higher in the T-LOC group than in the non T-LOC divers (3. 4 µM [3–3.5] vs 1.7 µM [1.55–1.85], $p < 0.01$; Fig. 1B). APC values returned to baseline within 10 min of recovery. APC pattern was inversely correlated with HR (Spearman's $r = -0.49$, $p = 0.02$; Fig. 1C) and with SpO_2 (Spearman's $r = -0.86$, $p = 0.001$; Fig. 1D).

The main finding of this study is that high baseline APC and high APC and low HR during breath-hold are associated with the occurrence of T-LOC. This suggests a role of adenosine release, via its bradycardic properties leading sometimes to AV block [9], in T-LOC in divers. Basal HR and APC measurement, could be useful for screening patients who dive.

References

[1] Fitz-Clarke JR. Adverse events in competitive breath hold diving. Undersea Hyperb Med 2006;1:55–62.
[2] Liner MH, Andersson JP. Hypoxic syncope in a competitive breath-hold diver with elevation of the brain damage marker S100B. Aviat Space Environ Med 2009;80:1066–8.
[3] Shen WK, Hammill SC, Munger TM, et al. Adenosine potential modulator for vasovagal syncope. J Am Coll Cardiol 1996;28:146–54.
[4] Saadjian A, Lévy S, Franceschi F, Ibrahim Z, Paganelli F, Guieu R. Role of endogenous adenosine as a modulator of syncope induced during tilt testing. Circulation 2002;106:569–74.
[5] Deharo JC, Mechulan A, Giorgi R, et al. Adensoine plasma level and A2A adenosine receptor expression: correlation with laboratory tests in patients with neutrally mediated syncope. Heart 2012;98:855–9.

[6] Shryock JC, Belardinelli L. Adenosine and adenosine receptors in the cardiovascular system: biochemistry, physiology and pharmacology. Am J Cardiol 1997;79:2–10.
[7] Grenz A, Homann D, Eltzschig HK. Extracellular adenosine: a safety signal that dampens hypoxia-induced inflammation during ischaemia. Antioxid Redox Signal 2011;15:2221–34.
[8] Guieu R, Sampieri F, Bechis G, Dussol B, Berland Y, Rochat H. Development of an HPLC diode array detector method for the determination of human plasma adenosine concentrations. J Liq Chromatogr 1999;22:1829–32.
[9] Brignole M, Deharo JC, De Roy L, et al. Syncope due to idiopathic paroxysmal atrioventricular block: long term follox-up of a distinct form of atrioventricular block. J Am Coll Cardiol 2011;58:167–73.

FINANCEMENTS

Les sources de financement qui ont contribué à la réalisation de ce travail de thèse sont les suivantes :

- Un contrat doctoral (2012-2015) attribué par l'école doctorale n°556 « Homme, Sociétés, Risques, Territoire » (**annexe 5**).

- Le laboratoire CETAPS pour les frais de déplacement, l'achat du matériel et de consommables.

- Une bourse de mobilité à l'international délivrée par la région Haute-Normandie pour couvrir les frais de déplacement en Australie.

- La *School of Allied Health Sciences (Griffith University, Gold Coast, Queensland, Australia)* pour le financement du projet IHE.

Résumé : Ce travail de thèse se propose d'étudier les effets de l'hypoxie dans un contexte sain et pathologique. En prenant tout d'abord comme support l'apnée, nous explorons les ajustements hémodynamiques déclenchés par un arrêt volontaire de la respiration chez des apnéistes (étude 1) pour ensuite les comparer chez des sujets non familiarisés à cette pratique sportive (étude 2). Les réponses hémodynamiques et ventilatoires à l'hypoxie ont ensuite été analysées afin de déterminer si la pratique de l'apnée influence les paramètres cardio-ventilatoires en altitude simulée (étude 3). L'adénosine a par ailleurs été dosée pour mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques à l'origine de la syncope en apnée (étude 4). Enfin, les effets de l'hypoxie normobarique intermittente sont étudiés sur les principaux facteurs de risques cardio-métaboliques chez des personnes obèses ou en surpoids (étude 5). L'ensemble des résultats tend à montrer que l'hypoxie entraîne des modifications efficientes tant sur le plan cardio-ventilatoire chez les apnéistes que métabolique chez les personnes obèses. En s'appuyant sur la construction et la validation de modèles de régression, nous mettons en évidence l'existence d'un événement physiologique auparavant inconnu lors de l'apnée, i.e. le « point d'économie d'oxygène ». Mis en lumière dans plusieurs conditions expérimentales, celui-ci marque le point de départ d'une remarquable rupture des cinétiques hémodynamiques dont l'objectif premier est de renforcer l'économie d'oxygène, retardant *in fine* l'hypoxie tissulaire des organes nobles. Les propriétés chronotropes négatives de l'adénosine seraient néanmoins susceptibles de déclencher une syncope en fin d'apnée en cas d'hypoxémie extrême chez certains individus. Ces résultats ainsi que la hausse de la réponse ventilatoire à l'hypoxie des apnéistes, suggèrent que la pratique de l'apnée pourrait être une alternative de pré-acclimatation à l'altitude naturelle. Outre ces effets, une dose hypoxique « modérée » administrée de façon intermittente parviendrait également à réduire certains facteurs de risques cardio-métaboliques, faisant de cet environnement une cause, mais aussi une thérapeutique non médicamenteuse prometteuse pour la prise en charge de personnes souffrant de troubles métaboliques.

Mots clés : Hypoxémie induite par l'apnée ; Réflexe de plongée ; Cinétiques hémodynamiques; Modélisation par régression ; Syncope ; Troubles métaboliques ; Hypoxie intermittente.

Abstract: This thesis investigates the effects of hypoxia in both healthy and diseased areas. Using freediving as a base, hemodynamic adjustments triggered by voluntary breath-holding were studied in trained breath-hold divers (study 1) to be then compared with non-divers (study 2). Moreover, both hemodynamic and ventilatory responses to hypoxia were investigated in trained breath-hold divers (study 3). Plasma adenosine concentration was also measured to clarify pathophysiological mechanisms underlying transient loss of consciousness during breath-holding (study 4). Finally, the effects of intermittent hypoxia were investigated on cardiometabolic risk factors in overweight or obese adults (study 5). Overall, the results tend to show that hypoxia induce efficient cardio-ventilatory adjustments in trained breath-hold divers as well as beneficial metabolic adaptations in obese adults. Based upon piecewise regression analyses, the occurrence of a new physiological event during breath-holding has been demonstrated, i.e. the "oxygen-conserving breaking point". This particular point and subsequent hemodynamic adjustments appears to increase the oxygen-conserving potential of the human diving reflex, therefore delaying hypoxia in oxygen-sensitive organs. Negative chronotropic properties of adenosine might however induce transient loss of consciousness during severe hypoxemia induced by prolonged breath-holding. These results, as well as the increased hypoxic ventilatory response in divers, suggest that breath-holding training might be an alternative strategy to induce altitude pre-acclimatization. Besides, moderate intermittent hypoxia might have beneficial outcomes on cardiometabolic risk factors, suggesting that this environment is the cause of, as well as a promising therapeutic approach in people suffering from metabolic disorders.

Key words: Breath-holding-induced hypoxemia; Diving reflex; Hemodynamic kinetics; Regression-based modeling; Transient loss of consciousness; Metabolic disorders; Intermittent hypoxia.