



HAL
open science

Physiologie de l'exercice et métabolomique chez des athlètes exposés à une altitude modérée aiguë

Florian Messier

► **To cite this version:**

Florian Messier. Physiologie de l'exercice et métabolomique chez des athlètes exposés à une altitude modérée aiguë. Médecine humaine et pathologie. Université de Perpignan, 2017. Français. NNT : 2017PERP0050 . tel-01743818

HAL Id: tel-01743818

<https://theses.hal.science/tel-01743818v1>

Submitted on 26 Mar 2018

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.



THÈSE

Pour obtenir le grade de
Docteur

Délivré par
UNIVERSITE DE PERPIGNAN VIA DOMITIA

Préparée au sein de l'école doctorale
Energie Environnement 305
Et de l'unité de recherche
Laboratoire Européen Performance Santé Altitude

Spécialité : Biologie Sport Santé

Présentée par Florian Messier

**Physiologie de l'exercice et métabolomique
chez des athlètes exposés à une altitude modérée
aiguë**

Soutenue le 21 Décembre 2017 devant le jury composé de

Mme Fabienne Durand, Professeur, Université Perpignan
Mme Laurence Le Moyec, Professeur, Université d'Evry
Mme Myriam Malet Martino, Professeur, Université Toulouse III
M. Samuel Verges, CR INSERM, HDR, Université Grenoble Alpes
M. Cédric Bertrand, Professeur, Université de Perpignan
M. David Thivel, MCF HDR, Université de Clermont Ferrand II
M. Triba Mohamed, MCF, Université Paris 13

Directrice de thèse
Directrice de thèse
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Examineur



Remerciements

A l'issue de la rédaction de cette thèse, je suis convaincu que la thèse est loin d'être un travail individuel. En effet, je n'aurais jamais pu réaliser ce travail sans le soutien de nombreuses personnes dont la générosité, la bonne humeur et l'intérêt manifestés à l'égard de ma recherche m'ont permis de progresser dans cette phase délicate du « chercheur en herbe ».

A Madame le Professeur Fabienne Durand,

Pour la confiance que vous m'avez accordée en m'accueillant dans votre laboratoire et en acceptant d'encadrer ce travail doctoral. Pour vos multiples conseils et pour toutes les heures que vous avez consacrées à diriger et à encadrer cette recherche. J'aimerais également vous remercier pour votre grande disponibilité tout au long de ce travail et pour votre respect sans faille des délais serrés de relecture des documents.

A Madame le Professeur Laurence Le Moyec,

Pour m'avoir fait découvrir la recherche en STAPS ainsi que la métabolomique. Pour toutes les connaissances que vous m'avez apportées en Master mais aussi lors de ces trois années de thèse. Pour votre soutien permanent, votre rigueur scientifique et votre engagement inflexible. Veuillez trouver dans ce manuscrit la marque de mon profond respect et de ma sincère reconnaissance.

A Madame le Professeur Malet-Martino et Monsieur le Docteur Samuel Verges ;

Pour l'honneur que vous me faites en acceptant de donner de votre temps pour critiquer et juger ce travail en tant que rapporteur de cette thèse. Vos conseils me seront précieux. Je souhaite également vous remercier pour m'avoir permis de rendre ce travail de meilleure qualité. Recevez ici ma gratitude et mes remerciements.

A Monsieur le Professeur Cédric Bertrand et Monsieur le Docteur David Thivel,

Pour l'honneur que vous me faites en participant à mon jury de thèse. Plus particulièrement, j'aimerais remercier le Professeur Cédric Bertrand qui a permis de faire le lien entre la métabolomique à l'Université de Perpignan, le LEPSA de Font-Romeu et le laboratoire BIAE d'Evry. De plus, je vous remercie d'avoir participé à l'ensemble des comités de suivi de thèse.

A Monsieur le Docteur Mohamed Triba,

Pour ton aide tout au long de cette thèse, pour tes explications claires et précises des analyses statistiques multivariées et pour nos multiples échanges. Mais aussi, pour avoir accepté d'être examinateur dans ce jury de thèse.

A Monsieur le Professeur Michel Audran,

Pour votre participation aux comités de suivi de thèse, vos remarques et les discussions qui ont permis d'avoir un autre regard sur ce travail de thèse.

A toute l'équipe du laboratoire CSPBAT de Bobigny,

Pour votre chaleureux accueil, pour vos conseils, pour votre confiance. Particulièrement, j'aimerais remercier Nadia Bouchemal pour ta gentillesse et ta confiance lors des acquisitions des données métabolomiques. Agnès pour ta générosité et ta bonté, merci d'avoir toujours été présente pour répondre à mes questions.

A Anne-Fleur,

Pour ton soutien permanent, ton aide infaillible lors des différentes étapes de ce travail. Pour m'avoir supporté lorsque je n'étais pas supportable. Pour toutes tes lectures et tes commentaires.

A tous mes collègues du STAPS de Font-Romeu,

Merci de votre soutien et de votre disponibilité lorsque j'étais dans le besoin. Particulièrement, Tatiana, Brigitte et Véronique pour avoir toujours été présentes pour m'aider. Anthony, merci d'avoir défendu le projet qui nous a permis d'obtenir le financement. Kiki merci pour ton amitié, ton appui sans faille et tous les midis que l'on a passé ensemble.

A Aurélie Collado et Carole Santi,

Merci de votre aide et votre bonté pour les différentes sessions de tests. Aurélie pour ton aide dans la mise en place des manipulations et l'accueil des participants aux études. Carole pour m'avoir appris les bases de la biochimie traditionnelle et ta participation aux sessions de tests.

A mes collègues catalans,

Pour notre collaboration, pour votre accueil et votre bonne humeur. Plus particulièrement, à Enric et Emma pour votre aide dans la réalisation des études.

A toute l'équipe du Laboratoire Biologie intégrative des adaptations à l'exercice d'Evry Val d'Essone,

Pour vos multiples accueils durant ces trois années, plus particulièrement à Mme Hamard pour vos conseils avisés, qui m'ont aussi permis d'avancer dans mes réflexions.

A l'équipe du laboratoire Biocapteurs Analyse Environnement,

Plus particulièrement, M. le Professeur Noguier pour votre accueil au sein de votre laboratoire, pour m'avoir laissé utiliser votre matériel et vos locaux.

A la station de la Masella et l'Université de Gérone,

Pour m'avoir accordé votre confiance en acceptant que je réalise les tests d'effort dans vos locaux.

A tous les participants de l'étude,

Merci d'avoir participé aux différentes sessions de tests, de vous être mis dans le « rouge » pour que je puisse obtenir de bonnes données. Ces sessions de tests ont été pour moi une formidable aventure de partage avec vous.

A M. Remy,

Pour avoir trouvé et rendu mon mac qui été tombé sur la route de Canet en Roussillon, alors qu'il me restait que 5 mois pour finir la rédaction de la thèse.

A toute l'équipe de la centrale solaire de Thémis à Targasonne,

Pour votre accueil et votre gentillesse qui m'ont permis une écriture sereine de la thèse.

A Mohammed et Polina,

Pour m'avoir accueilli lorsque je devais me rendre en Ile de France, pour votre bonté et votre générosité. Petite pensée à Dany.

Enfin, je ne pourrais finir ces remerciements sans penser à ma famille et à la famille Gaston dont l'affection, l'amour, le soutien et les encouragements constants m'ont été d'un grand réconfort et ont contribué à l'aboutissement de ce travail.

A toutes les autres personnes que je n'ai pas citées personnellement mais qui ont aussi contribué à la réalisation de ce travail.

Table des matières

TABLE DES MATIERES.....	5
LISTE DES ABREVIATIONS.....	1
LISTE DES FIGURES.....	3
LISTE DES TABLEAUX.....	5
INTRODUCTION GENERALE.....	6
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE.....	8
I. RAPPELS PHYSIOLOGIQUES.....	8
1. <i>Les différentes sources d'énergie à l'exercice.....</i>	8
a) La voie anaérobie alactique.....	8
b) La voie anaérobie lactique.....	9
c) La voie aérobie.....	10
2. <i>La consommation maximale d'oxygène à l'exercice.....</i>	14
II. REPONSES PHYSIOLOGIQUES A L'ALTITUDE.....	16
1. <i>Altitude et stress hypoxique.....</i>	16
2. <i>Modulation de la réponse à l'hypoxie.....</i>	19
a) En fonction de l'altitude.....	19
b) En fonction du niveau d'entraînement.....	20
c) En fonction du type d'hypoxie.....	20
3. <i>Réponses respiratoires à l'altitude.....</i>	21
a) L'hyperventilation.....	21
b) Les échanges gazeux.....	23
4. <i>Réponses hématologiques à l'altitude.....</i>	26
5. <i>Réponses cardiovasculaires à l'altitude.....</i>	27
a) Débit cardiaque.....	27
b) Fréquence cardiaque.....	28
c) Volume d'éjection systolique.....	29
6. <i>Apports et utilisation de l'O₂ au niveau du muscle.....</i>	32
7. <i>Utilisation des substrats énergétiques en altitude.....</i>	38
III. LA METABOLOMIQUE.....	40
1. <i>Définitions de la métabolomique, métabonomique et du métabolome.....</i>	40
2. <i>Les différents types d'approches.....</i>	41
3. <i>Méthodes d'acquisition des données.....</i>	42
4. <i>Déroulement d'une analyse métabolomique par ¹H RMN.....</i>	44
a) Protocole expérimental d'une étude de métabolomique.....	45
b) Principe de la RMN ¹ H et acquisition des données.....	45

c)	Traitement des données	47
d)	Analyses statistiques	47
e)	Identification des variables d'intérêt	50
5.	<i>Applications</i>	51
a)	Métabolomique et exercice	51
b)	Métabolomique et altitude	53
CHAPITRE II : CONTRIBUTION PERSONNELLE		61
I.	INTRODUCTION	61
1.	<i>But et orientation du travail</i>	62
2.	<i>Liste des publications et articles en préparation</i>	63
II.	MATERIELS ET METHODES	65
1.	<i>Sujets</i>	65
2.	<i>Design de l'étude</i>	65
3.	<i>Mesures des échanges gazeux et des paramètres cardio-respiratoires</i>	67
4.	<i>Collecte des échantillons sanguins et urinaires</i>	68
5.	<i>Acquisition des signaux RMN (FID) des plasmas et des urines</i>	69
6.	<i>Traitement des spectres RMN des plasmas et des urines</i>	69
7.	<i>Analyses statistiques</i>	71
III.	IMPACT DE L'ALTITUDE MODEREE SUR LE METABOLISME A L'EXERCICE CHEZ LES SPORTIFS MOYENNEMENT ENTRAINES : APPROCHE METABOLOMIQUE PAR ¹ H RMN	73
1.	<i>Introduction</i>	73
2.	<i>Résultats</i>	73
3.	<i>Discussion</i>	79
4.	<i>Conclusion</i>	82
IV.	EFFET D'UN EXERCICE JUSQU'A EPUISEMENT EN MOYENNE ALTITUDE (2150M) SUR LE METABOLOME PLASMATIQUE ET URINAIRE ANALYSE PAR ¹ H RMN	83
1.	<i>Introduction</i>	83
2.	<i>Résultats</i>	85
3.	<i>Discussion</i>	96
4.	<i>Conclusion</i>	102
V.	APPLICATION DE ACCPS POUR L'ANALYSE CONCOMITANTE DES DONNEES APPARIEE DE ¹ H RMN ET LES VARIABLES PHYSIOLOGIQUES OBTENUES LORS DES EXERCICES EFFECTUES EN PLAINE ET EN ALTITUDE	103
1.	<i>Introduction</i>	103
2.	<i>Méthodes</i>	104
3.	<i>Résultats</i>	105
4.	<i>Discussion</i>	111
5.	<i>Conclusion</i>	112
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES		114

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	117
ANNEXES	139

Liste des abréviations

ΣP_p	Somme des pressions partielles des gaz contenus dans l'air
AAR	Acides aminés ramifiés
ACP	Analyse en composante principale
ADP	Adénosine diphosphate
AGL	Acides gras libre
ATP	Adénosine triphosphate
ATPase	Adénosine triphosphates
bpm	Battements par minute
CaO ₂	Contenu artériel en O ₂
CP	Composante principale
CvO ₂	Contenu veineux en O ₂
D	Constante de diffusion
D(A-a)O ₂	Différence alvéolo-artérielle en O ₂
D(a-v)O ₂	Différence artério-veineuse
D ₂ O	Oxyde de deutérium
D _T O ₂	Diffusion tissulaire
e	Epaisseur de la membrane
EPO	Erythropoïétine
FC	Fréquence cardiaque
FID	Free induction decay
F _R	Fréquence respiratoire
GC	Chromatographie en phase gazeuse
Hb	Hémoglobine
HIF-1	Facteur stimulant la sécrétion de VEGF
LC	Chromatographie liquide
MAM	Mal aigu des montagnes
O ₂	Oxygène
OPHA	Œdème pulmonaire de haute altitude
OPLS	Orthogonal projection to latent structure
P	Puissance
PaCO ₂	Pression artérielle en CO ₂
PAO ₂	Pression alvéolaire en O ₂
PaO ₂	Pressions partielles artérielle en O ₂
PAO ₂ -PaO ₂	gradient de pression alvéolo-capillaire
Patm	Pression atmosphérique
PCK	Phosphocréatine kinase
P _c O ₂	Pression capillaire en O ₂
PCr	Phosphocréatine

Pi	Ions phosphate
PLS	Projection to latente structure
Pp	Pression partielle
ppm	Partie par million
ppm	Partie par million
P _T O ₂	Pression tissulaire en O ₂
PvO ₂	Pressions partielles veineuse en O ₂
Q̇	Perfusion
Q ² Y	Coefficient prédictif
Q̇c	Débit cardiaque
QR	Quotient respiratoire
r	Coefficient de corrélation
R ² Y	Coefficient de corrélation
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
rpm	Répétition par minute
s	Surface de l'aire de diffusion
SaO ₂	Saturation artérielle en O ₂
SpO ₂	Saturation partielle en O ₂
SM	Spectrométrie de masse
SV1	Seuil ventilatoire 1
SV2	Seuil ventilatoire 2
T0	Plasma avant effort
T60	Plasma après 60 min d'effort à SV1
TG	Triglycérides
Tmax	Plasma après effort jusqu'au « finish »
Torth	Composante orthogonale
Tpred	Composante prédictive
U0	Urine avant test endurance
Umax	Urine après effort jusqu'au « finish »
VȦ	Ventilation pulmonaire
VĖ	Ventilation
VEGF	Facteur de croissance endothélial vasculaire
VES	Volume d'éjection systolique
VO ₂ max	Consommation maximal d'oxygène
VP	Volume plasmatique
VPH	Vasoconstriction pulmonaire hypoxique
V _T	Volume courant
βb	Pente de la courbe de dissociation de l'O ₂

Liste des figures

FIGURE 1 L'EQUILIBRE DES LIQUEURS.....	6
FIGURE 2 : LA VOIE DE LA GLYCOLYSE :	10
FIGURE 3 : CYCLE DE L'ACIDE CITRIQUE (OU DE KREBS).....	11
FIGURE 4 : INTERMEDIAIRES GLUCOGENIQUES ET CETOGENIQUES PRODUITS SUITE AU CATABOLISME DES ACIDES AMINES DANS LE FOIE.	12
FIGURE 5 : VOIES BIOCHIMIQUES DE LA PRODUCTION D'ATP UTILISEES PENDANT LA CONTRACTION DU MUSCLE	13
FIGURE 6 : PART RELATIVE D'UTILISATION DES LIPIDES ET DES GLUCIDES EN FONCTION DE L'INTENSITE DE L'EFFORT.....	14
FIGURE 7 : LA CHAINE CARDIO-RESPIRATOIRE ET SES DIFFERENTS MAILLONS.....	16
FIGURE 8 : CASCADE DE L'O ₂ DANS L'ORGANISME EN PLAINE	17
FIGURE 9 : EFFET DE L'ALTITUDE SUR LA DIMINUTION DE LA PO ₂ DANS LA CASCADE DE L'OXYGENE	18
FIGURE 10 MECANISMES DU CONTROLE DE LA VENTILATION EN ALTITUDE.....	22
FIGURE 11 HYPOTHESES EXPLICATIVES DU TROUBLE DES ECHANGES GAZEUX	25
FIGURE 12 : DIMINUTION DE LA FC _{MAX} EN HYPOXIE AIGUE. LES RESULTATS PRESENTES SONT UNE COMPILATION DE 28 ETUDES DIFFERENTES	28
FIGURE 13 : EVOLUTION DE LA PRESSION ARTERIELLE PULMONAIRE EN FONCTION DE L'ALTITUDE	31
FIGURE 14 : RELATION ENTRE L'ALTITUDE, LA PRESSION BAROMETRIQUE, LA PRESSION PARTIELLE EN O ₂ ET LA SATURATION DE L'HEMOGLOBINE EN	32
FIGURE 15 : POURCENTAGE DE DIMINUTION DES VALEURS DE $\dot{V}O_{2MAX}$ A DIFFERENTES ALTITUDES PAR RAPPORT AU NIVEAU DE LA MER.	35
FIGURE 16 : % DE PERTE DE $\dot{V}O_{2MAX}$ ET DE P _{MAX} D'APRES PLUSIEURS ETUDES.....	36
FIGURE 17 : RECORD DE TEMPS AU MARATHON CHEZ LES HOMMES ET LES FEMMES AVEC L'AUGMENTATION DE L'ALTITUDE	36
FIGURE 18 : PLACE DE LA METABOLOMIQUE DANS LES TECHNIQUES EN OMNIQUES	40
FIGURE 19 : DEROULEMENT D'UNE ANALYSE METABOLOMIQUE.PAR ¹ H RMN.	44
FIGURE 20 : L'EXPERIENCE ¹ H RMN	46
FIGURE 21 : PASSAGE D'UN SIGNAL FID A UN SPECTRE EN APPLIQUANT UNE TRANSFORMEE DE FOURIER	46
FIGURE 22 : EXEMPLE D'UN SCORE PLOT ET D'UN LOADING PLOT	50
FIGURE 23 : DESIGN DE L'ETUDE	67
FIGURE 24 : PARTICIPANTS EQUIPES DU K4B2 LORS DE L'EXPERIMENTATION EN PLAINE A GERONE ET A LA MASELLA.	68
FIGURE 25 DEFINITIONS GRAPHIQUES DES SEUILS VENTILATOIRES	68
FIGURE 26 : EXEMPLE DE REALIGNEMENT DES SPECTRES DANS MATLAB EN UTILISANT L'OUTIL ICOSHIFT	71
FIGURE 27 : SCORE PLOT DU MODELE ACP OBTENU AVEC LES PLASMAS AVANT LE TEST D'EFFORT D'ENDURANCE EN PLAINE ET EN ALTITUDE	75
FIGURE 28 : FIGURES DU PROFIL METABOLOMIQUE ENTRE T0 ET T60 EN PLAINE	76
FIGURE 29 FIGURES DU PROFIL METABOLOMIQUE ENTRE T0 ET T60	77

FIGURE 30 : SCORE PLOT DU MODELE ACP COMPARANT LES ECHANTILLONS PLASMATIQUES AVANT L'EFFORT EN PLAINE ET AVANT L'EFFORT EN ALTITUDE	87
FIGURE 31 : FIGURES DU PROFIL METABOLOMIQUE PLASMATIQUE ENTRE T0 ET TMAX EN PLAINE.	88
FIGURE 32 : FIGURES DU PROFIL METABOLOMIQUE ENTRE T0 ET TMAX EN ALTITUDE.	90
FIGURE 33 : SCORE PLOT DU MODELE ACP COMPARANT LES ECHANTILLONS URINAIRES AVANT L'EFFORT EN PLAINE ET AVANT L'EFFORT EN ALTITUDE.....	92
FIGURE 34 : SCORE PLOT DU MODELE ACP COMPARANT LES URINES AVANT L'EFFORT ET APRES L'EFFORT EN PLAINE	92
FIGURE 35 : FIGURES DU PROFIL METABOLOMIQUE ENTRE U0 ET UMAX EN PLAINE	93
FIGURE 36 : SCORE PLOT DU MODELE ACP COMPARANT LES URINES AVANT L'EFFORT ET APRES L'EFFORT EN ALTITUDE	94
FIGURE 37 : FIGURES DU PROFIL METABOLOMIQUE ENTRE U0 ET UMAX EN ALTITUDE	95
FIGURE 38 VOIES D'UTILISATION DES GLUCIDES, DES LIPIDES ET DES ACIDES AMINES.	101
FIGURE 39 SCORE PLOT DU MODELE ACP CALCULE A L'AIDE DES SPECTRES PLASMATIQUES T0 (ROUGE) T60 (VERT) ET TMAX (BLEU), LES RONDS ET LES TRIANGLES CORRESPONDENT REPECTIVEMENT AUX SPECTRES OBTENUS EN ALTITUDE ET EN PLAINE.....	105
FIGURE 40 SCORE PLOT DU MODELE ACP CALCULE A L'AIDE DES DONNEES CARDIORESPIRATOIRES ET DE PERFORMANCES:..	106
FIGURE 41 A) POINTS DES BLOCS DES DONNEES METABOLOMIQUES (X) ET DES DONNES CARDIO-RESPIRATOIRES ET DE PERFORMANCES (Y) POUR LE CALCUL DE CHAQUE COMPOSANTE. B) SCORE DES ECHANTILLONS EN FONCTION DES DIFFERENTES COMPOSANTES COMMUNES	107
FIGURE 42 VARIABLES CARDIO-RESPIRATOIRES ET DE PERFORMANCES ET VARIABLES METABOLOMIQUES RESPONSABLES DU CALCUL DES COMPOSANTES COMMUNES 1, 2, 3 ET 4 DES DEUX BASES DE DONNEES.	108

Liste des tableaux

TABLEAU 1 : EVOLUTION DE LA PRESSION ATMOSPHERIQUE, ET DE LA PRESSION PARTIELLE EN O ₂ DE L'AIR AMBIANT EN FONCTION DE L'ALTITUDE.	17
TABLEAU 2 : RECAPITULATIF DES PRINCIPALES ADAPTATIONS PHYSIOLOGIQUES A L'EXERCICE MAXIMAL EN ALTITUDE.	37
TABLEAU 3 : RECAPITULATIF DES DIFFERENTES ETUDES METABOLOMIQUES EN MEDECINE DU SPORT ET EN PHYSIOLOGIE DE L'EXERCICE	56
TABLEAU 4 : DONNEES CARDIO-RESPIRATOIRES ET DES PERFORMANCES MOYENNES DU TEST D'EFFORT D'ENDURANCE ENTRE 20 MIN ET 60 MIN.	74
TABLEAU 5 LISTE DES RESONANCES PRESENTANT UN COEFFICIENT DE CORRELATION DONT LA VALEUR ABSOLUE EST SUPERIEURE A 0,5 SUR LE LOADING PLOT DU MODELE OPLS :	78
TABLEAU 6 : PARAMETRES CARDIO-RESPIRATOIRES ET DE PERFORMANCE LORS DU TEST D'ENDURANCE	86
TABLEAU 7 : CONCENTRATION D'HEMOGLOBINE ET HEMATOCRITE A T ₀ ET A T _{MAX} EN PLAINE ET EN ALTITUDE.....	86
TABLEAU 8 : LISTE DES RESONANCES DONT LA VALEUR ABSOLUE DU COEFFICIENT DE CORRELATION R ESTSUPERIEURE A 0,5 SUR LE LOADING PLOT DU MODELE OPLS COMPARANT LES PLAMAS T ₀ ET T _{MAX} EN PLAINE ET EN ALTITUDE.	91
TABLEAU 9 : LISTE DES RESONANCES DONT LA VALEUR ABSOLUE DU COEFFICIENT DE CORRELATION R ESTSUPERIEURE A 0,4 SUR LE LOADING PLOT DU MODELE OPLS COMPARANT LES URINES U ₀ ET U _{MAX} EN PLAINE ET EN ALTITUDE.	96
TABLEAU 10 LISTES DES METABOLITES QUI APPARTIENNENT AUX COMPOSANTES COMMUNES DANS LES CALCULS EN ACCPS.	109
TABLEAU 11 DONNEES CARDIAQUES ET DE RESPIRATOIRE MESUREES AU NIVEAU DE LA MER ET A 2 150 M AVANT TEST D'ENDURANCE, A 60 MIN APRES LE TEST D'ENDURANCE ET APRES EPUISEMENT :	110

Introduction générale

La recherche scientifique sur l'altitude a commencé avec l'invention du baromètre par Torricelli en 1644 et la démonstration de la diminution de la pression barométrique avec l'altitude par Blaise Pascal en 1648 (Pascal et Perier 1648); (figure 1). La première étude sur l'effet de l'altitude sur les êtres vivants a été menée quinze années plus tard par Robert Boyle (West 2005). Ce ne sera qu'au siècle d'après que l'oxygène sera découvert et que le chimiste Antoine Laurent de Lavoisier expliquera son rôle dans la respiration. Après cette découverte, plusieurs expérimentations seront menées pour étudier l'exposition rapide à l'altitude avec plus ou moins de réussite et de survivants (utilisation de ballon à air chaud ou à hydrogène). L'expansion de l'alpinisme au 19^{ème} siècle marquera le développement des études sur la compréhension des effets de l'altitude sur les organismes. L'une des plus grandes découvertes a été faite en 1878 par Paul Bert lorsqu'il a mis en évidence l'incidence de la pression atmosphérique sur la pression partielle en oxygène.

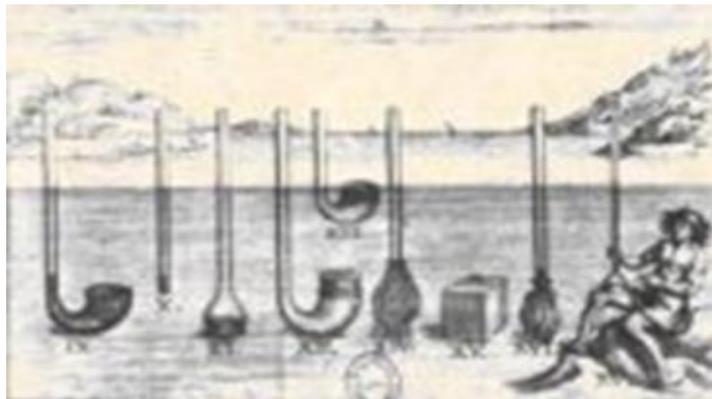


Figure 1 L'équilibre des liqueurs. Dans les années 1640, au Puy-de-Dôme, Blaise Pascal met en évidence l'existence du vide et découvre le principe du baromètre : la hauteur de la colonne de mercure dans les tubes n'était pas la même au bas et au sommet du mont.

La recherche en physiologie de l'altitude a donc pris un réel essor dès la fin du 19^{ème} siècle, mais le véritable engouement pour la recherche sur l'exposition à l'altitude et l'entraînement en altitude est apparu à l'époque des Jeux Olympiques de Mexico en 1968. A cette occasion, les fédérations sportives du monde entier recherchent des lieux d'entraînement proches des conditions d'altitude de Mexico (2250 m), c'est alors qu'est né le centre d'entraînement pré-olympique de Font-Romeu à 1850 m d'altitude. Les recherches en altitude se sont ensuite multipliées dans de nombreux domaines. Depuis les 20 dernières années, les activités sportives de montagne sont en plein essor. En effet, de plus en plus de personnes fréquentent l'altitude modérée que ce soit dans le cadre de randonnées de loisir ou de compétition et/ou

d'entraînement dans des sports comme le trail. Une part importante de ces pratiquants n'est pas acclimatée à l'altitude et se retrouve donc à pratiquer dans une situation d'hypoxie aiguë. La plupart des études scientifiques concernent l'entraînement en altitude. L'enthousiasme des sports outdoor en altitude modérée a relancé la recherche en physiologie. Les études passées se sont attachées à l'évolution des paramètres cardio-respiratoires et musculaires lors d'un effort en altitude aiguë, peu d'études ont été menées sur les métabolismes énergétiques. Actuellement, aucun consensus n'existe vraiment sur l'utilisation des substrats énergétiques lors d'une exposition aiguë à l'altitude.

Afin d'apprécier les modulations d'utilisation des substrats énergétiques en fonction de différents stimuli (comme l'exercice ou une pathologie), une technique novatrice est apparue dans les années 90 : la métabolomique. Elle permet d'étudier l'évolution de l'ensemble des petites molécules présentes dans un échantillon biologique et ainsi d'apprécier les modulations métaboliques. Le mot métabolisme provient du grec “μεταβολή- ισμός” (metabo-lismo), qui signifie “changement”. Des études métaboliques ont été menées dès le 13^{ème} siècle par Ibn al-Nafis (1213-1288), qui a déclaré que "le corps et ses parties sont en état de dissolution et d'alimentation continue, alors qu'ils subissent inévitablement des changements permanents", mais il est reconnu que l'étude du métabolisme a commencé dès l'antiquité. Aujourd'hui, le métabolisme est étudié à l'aide de techniques biochimiques, de biotechnologies moléculaires et de la génomique. Des méthodologies tels que la chromatographie, la spectrométrie par résonance magnétique nucléaire, le marquage radio-isotopique, la microscopie électronique et la spectrométrie de masse sont couramment utilisés pour détecter et quantifier les métabolites afin d'explorer les voies métaboliques et leurs éventuelles modulations.

Cette thèse s'inscrit dans le contexte d'expansion des activités de pleine nature et plus particulièrement des activités sportives de montagne alors qu'il n'existe aucun consensus sur les modulations du métabolisme énergétique lors d'un exercice en altitude. Ce travail utilise de nouvelles techniques analytiques pour comprendre les modulations métaboliques induites par l'hypoxie lors d'un exercice. Dans une première partie, nous rappellerons les notions de bioénergétique à l'exercice puis nous nous attarderons sur l'impact de l'altitude et ses modulations. Puis dans une deuxième partie, nous exposerons notre travail dans lequel nous avons observé et analysé l'effet de l'altitude sur les voies métaboliques à l'effort en utilisant la métabolomique par résonance magnétique nucléaire ou RMN.

Chapitre I : Revue de la littérature

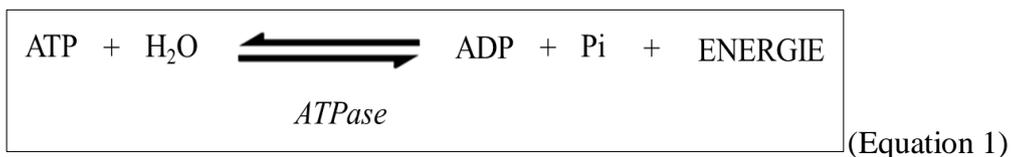
I. Rappels physiologiques

1. Les différentes sources d'énergie à l'exercice

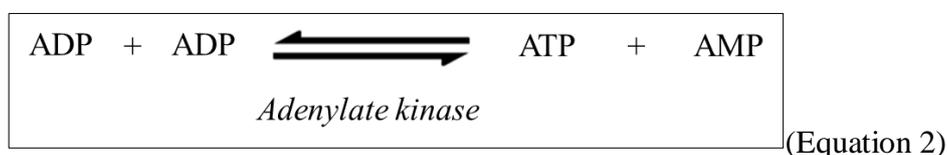
L'apport d'énergie aux muscles permettant la contraction nécessite la transformation d'énergie chimique en énergie mécanique. Pour produire l'énergie chimique, il faut dégrader des molécules d'adénosine triphosphate (ATP). Les réserves musculaires en ATP étant très restreintes, il est nécessaire que l'ATP soit vite renouvelée dès le début de l'effort pour que celui-ci puisse perdurer. L'énergie produite par les différents métabolismes provient de mécanismes anaérobies et aérobie. Le mot aérobie est formé à partir des noms grecs $\alpha\eta\rho$ (« air ») et $\beta\acute{\iota}\omicron\varsigma$ (« vie »), concrètement aérobie veut dire que le mécanisme utilise de l' O_2 pour produire de l'énergie. A l'inverse, le mot anaérobie qualifie un mécanisme n'utilisant pas d'oxygène.

a) La voie anaérobie alactique

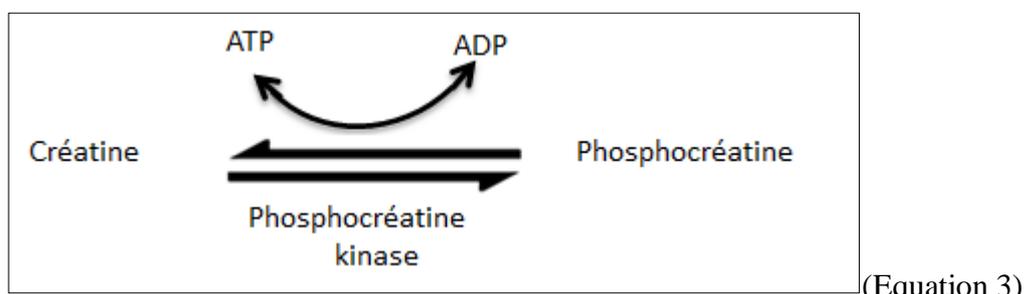
La première source d'énergie produit vient de l'hydrolyse de l'ATP sous l'action de l'adénosine triphosphate (ATPase) :



L'hydrolyse de l'ATP produit de l'adénosine diphosphate (ADP) et libère des ions phosphate (P_i) et de l'énergie. Dans des conditions normales, l'hydrolyse d'une mole d'ATP produit 10,5 Kcal d'énergie libre. La concentration en ATP est faible dans le muscle ($5\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$). Ainsi l'organisme doit reconstituer ces stocks d'ATP dès le début de l'exercice, pour cela il va utiliser 2 molécules d'ADP pour produire une molécule d'ATP et d'adénosine monophosphate (AMP).



Il existe une deuxième voie de production d'ATP qui passe par la dégradation de la phosphocréatine (PCr) via la phosphocréatine kinase (PCK). La PCK permet le transfert du groupement phosphoryle de la PCr vers l'ADP. Cette réaction est réversible.



La concentration de PCr est de 17 mmol.kg^{-1} de muscles secs soit 3 fois plus que les réserves d'ATP. La PCr est la principale réserve de phosphate à haute énergie. La vitesse de dégradation de la PCr est dépendante de l'intensité et de la durée d'exercice (Poortmans et Boisseau 2003). Pour augmenter l'utilisation de la PCr, il faut, au minimum, que les intensités d'exercice soit de 75 à 80% de la consommation maximale d'oxygène ($\dot{V}O_2 \text{ max}$). La perte d'ATP peut être compensée par la PCr lors d'un exercice maximal pendant les 7 premières secondes, à l'exercice sous maximal pendant les 20 à 30 premières secondes d'exercice. Par la suite, l'organisme devra utiliser les réserves non phosphorylées pour produire de l'ATP.

b) La voie anaérobie lactique

Couramment appelée voie d'Embden Meyerhoff (ou glycolyse ou glycogénolyse suivant le substrat utilisé), cette voie se déroule dans le cytoplasme. Elle nécessite l'utilisation de glucides ou de glycogène. Cette voie nécessite plus de temps que la voie anaérobie alactique pour se mettre en place (10 à 15 secondes). La capacité de production d'énergie est supérieure mais elle a un facteur limitant qui est la production et l'accumulation d'acide lactique. La production de lactate modifie le pH intracellulaire et bloque l'activité de certaines enzymes. Le lactate doit être éliminé du milieu intracellulaire car il ne peut être dégradé qu'en présence d' O_2 . Les différentes étapes de cette voie de production d'énergie sont synthétisées dans la figure 2. La dégradation complète d'une molécule de glucose permet la production de 2 ATP et la dégradation complète d'une molécule de glycogène permet la production de 3 ATP.

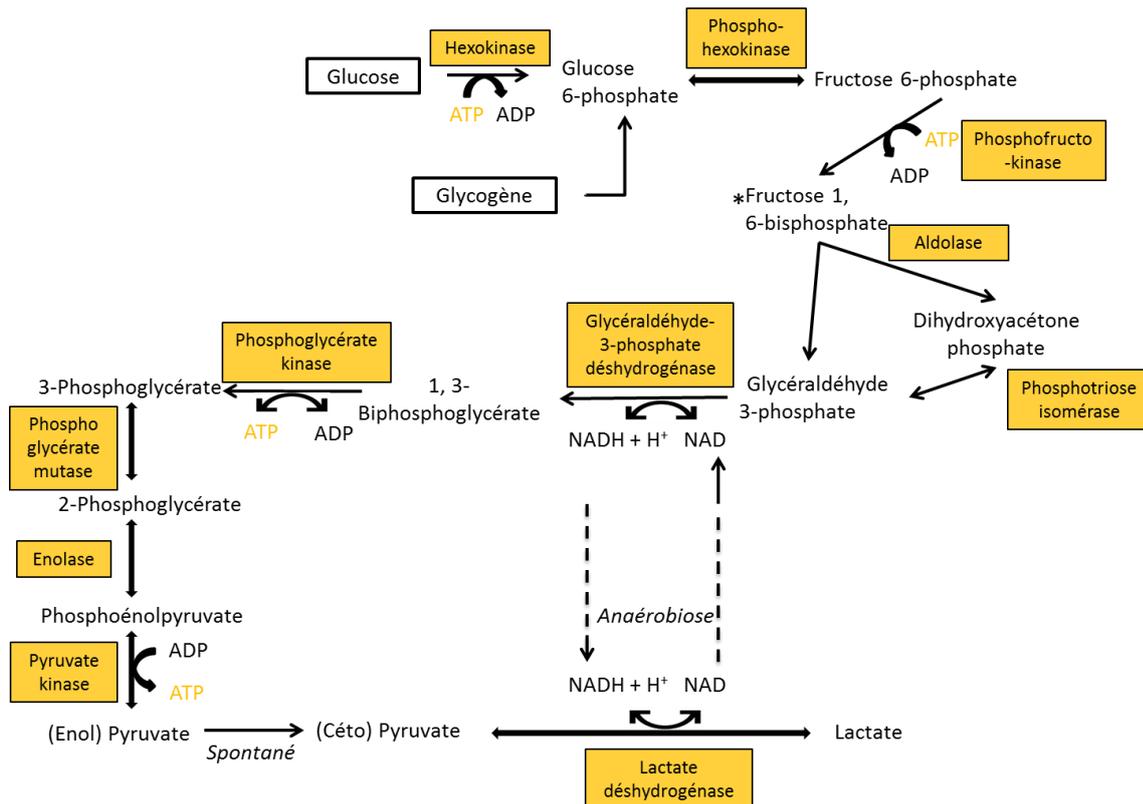


Figure 2 : La voie de la glycolyse : en partant du signe *, les atomes de carbone 1 à 3 du fructose bisphosphate forment la dihydroxyacétate phosphate alors que les atomes de carbone 4 à 6 sont retrouvés dans le glycéraldéhyde 3-phosphate (Biochimie de Harper 2017)

Le glucose est le substrat de la glycolyse pour des activités intenses de courte durée. Il peut produire rapidement de l'ATP, mais seules des quantités limitées sont stockées. En fait, le glycogène du foie et du muscle, qui est la forme de stockage des glucides, représente habituellement moins de 5% du total des réserves d'énergie d'un organisme (Weber et al. 2011). A partir du glycogène, le rendement énergétique est meilleur qu'à partir du glucose car la glycogénolyse produit un glucose-6-phosphate sans consommer d'ATP.

c) La voie aérobie

La voie aérobie est la voie principale de synthèse de l'ATP. Elle est activée au cours des efforts d'une durée supérieure à 2 minutes et, plus l'effort se prolonge, plus la proportion de l'énergie apportée par cette voie augmente. Cette voie nécessite la présence d'O₂ et utilise des substrats énergétiques qui sont majoritairement les lipides et les glucides. Les protéines peuvent également être utilisées mais dans des proportions moindres. Leur utilisation ne représente que 5 à 10 % de l'énergie totale apportée.

Le métabolisme des glucides débute par les réactions de la glycolyse mais dans ce cas de figure, l'acide pyruvique ne va pas être converti en acide lactique mais en acétyl-CoA. Il va

subir de multiples transformations dans la mitochondrie en présence d'O₂ afin de produire de l'ATP. Les principales réactions sont une dégradation dans le cycle de l'acide citrique (ou le cycle de Krebs) (figure 3) et la phosphorylation oxydative. Cette dernière consiste en l'utilisation simultanée des protons libérés du cycle de l'acide citrique dans la chaîne respiratoire, ce qui va produire du CO₂ par consommation d'O₂, de l'eau et de l'énergie. L'oxydation complète d'une molécule de glucose produit 38 ATP. Pour produire une mole d'ATP avec du glucose, il faut 3,72 litres d'O₂.

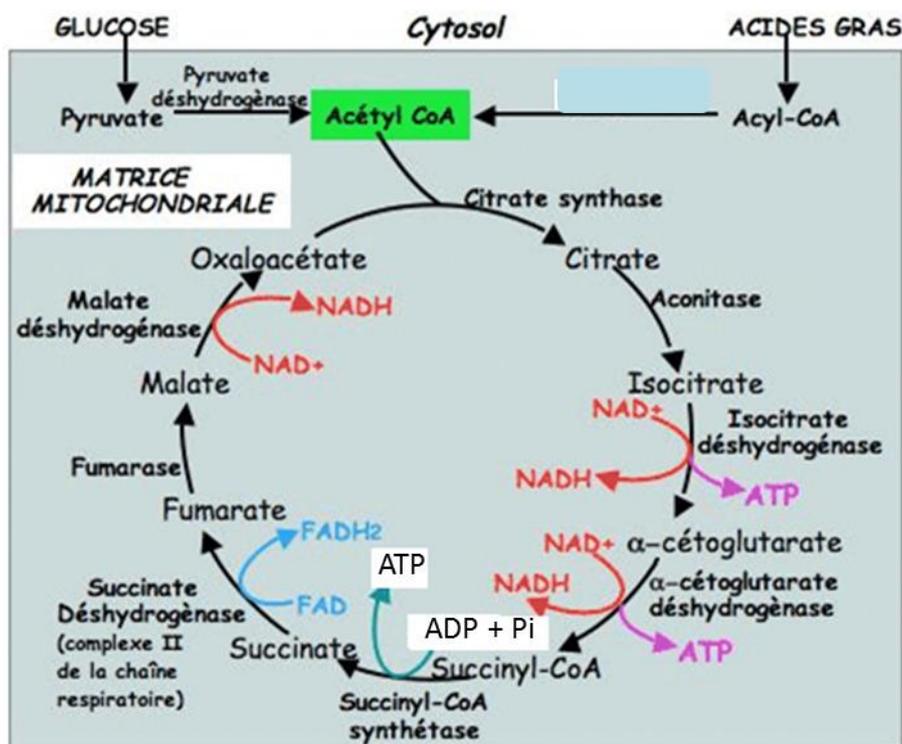


Figure 3 : Cycle de l'acide citrique (ou de Krebs). L'oxydation du NAD et du FADH₂ dans la chaîne respiratoire conduit à la formation d'ATP via la phosphorylation oxydative (d'après <https://jeretiens.net/cycle-de-krebs/>)

Les lipides peuvent être métabolisés pour produire de l'énergie et ceci uniquement en présence d'oxygène. Les lipides sont les substrats énergétiques les plus abondants chez l'Homme. Les différentes formes des lipides sont les triglycérides (TG), qui sont stockés dans les muscles chez les athlètes endurants, et les acides gras libres (AGL) qui proviennent des triglycérides du tissu adipeux. Avant de pouvoir contribuer à la production d'énergie, chaque triglycéride est hydrolysé en 1 glycérol et 3 AGL par une lipase. Le glycérol pourra être utilisé comme substrat pour la néoglucogénèse. Les AGL sont utilisés pour produire de l'acétyl-CoA par la β-oxydation. Ensuite, l'acétyl-CoA entre dans le cycle de l'acide citrique et enfin participe à la production d'ATP par phosphorylation oxydative. Une molécule d'acide

gras de 16 carbones totalement oxydée permettra la production de 129 molécules d'ATP, c'est à dire 3 fois plus d'ATP qu'une molécule de glucose. En contrepartie, la production d'une molécule d'ATP utilise 4 litres d'O₂ pour dégrader un acide gras à 16 carbones contre 3,5 litres pour une molécule de glucose.

Le métabolisme des protéines n'intervient que marginalement dans la production d'énergie. Les protéines ont un rôle structural et fonctionnel majeur et leur utilisation, en cas de carence des autres sources, se fait au détriment de ces fonctions principales. Pour produire de l'énergie, les acides aminés sont désaminés pour former un acide α cétonique qui pourra suivre deux voies potentielles, soit en entrant dans le cycle de l'acide citrique, soit en formant un glucose par néoglucogénèse. (Figure 4).

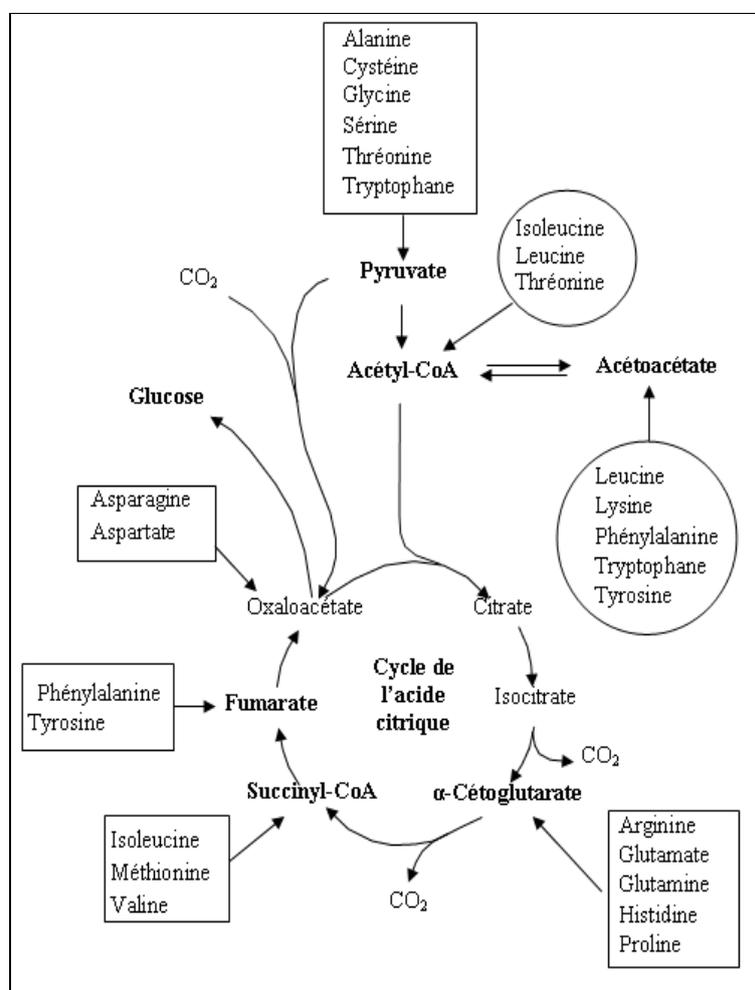


Figure 4 : Intermédiaires glucogéniques (dans les carrés) et cétogéniques (dans les cercles) produits suite au catabolisme des acides aminés dans le foie (Tiré de Voet et Voet 1998).

Lors d'un exercice bref, les concentrations sanguines d'acides aminés peuvent être augmentées par une protéolyse musculaire. L'alanine qui peut être produit lors de la glycolyse

à partir du pyruvate, est convertie dans le foie par la néoglucogenèse en glycogène ou en glucose qui sera ensuite utilisé par les muscles. Lorsque l'exercice se prolonge, les concentrations en acides aminés diminuent dans le sang. Les acides aminés ramifiés (leucine, isoleucine, valine), l'acide asparagique, asparagine et l'acide glutamique sont importants dans le métabolisme énergétique. En cas d'épuisement des autres substrats énergétiques, ces acides aminés peuvent être oxydés lors d'un exercice prolongé. La désamination des acides aminés libère des groupements aminés (NH_2) qui sont convertis en ammoniacque, puis en urée qui sera éliminée par les reins dans les urines. La production d'énergie en utilisant les acides aminés est régulée par la disponibilité des autres substrats. En effet, il a été montré une corrélation entre la dégradation du glycogène et la production d'urée (Poortmans 2004; Poortmans et Boisseau 2003).

Les différentes voies de production d'ATP à l'exercice sont synthétisées ci-dessous.

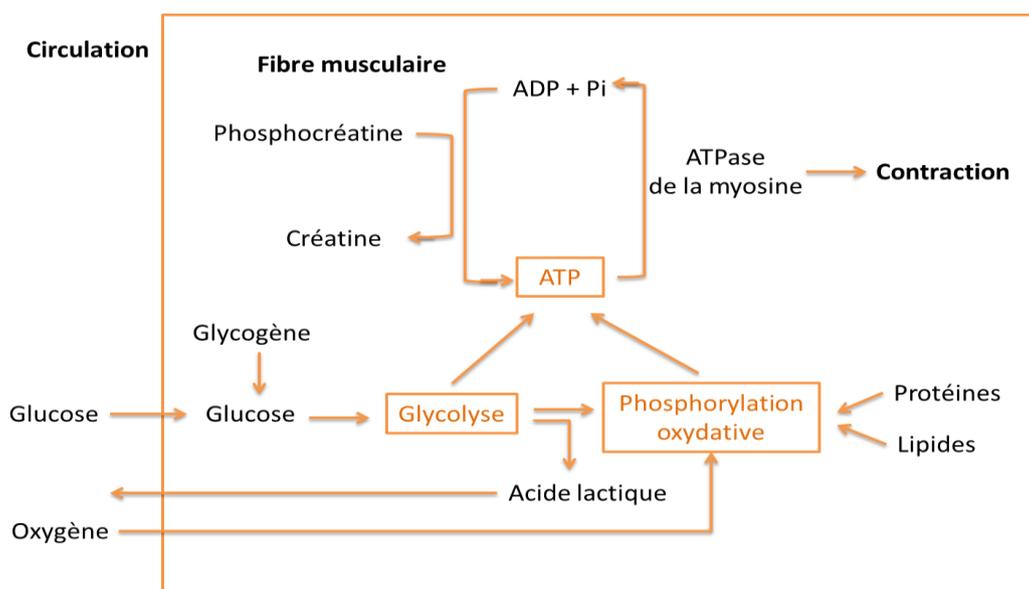


Figure 5 : Voies biochimiques de la production d'ATP utilisées pendant la contraction du muscle

Chez l'Homme, les contributions relatives des glucides et des lipides au métabolisme énergétique varient en fonction de l'intensité de l'exercice. À mesure que l'intensité de l'exercice augmente, la proportion de glucides oxydés augmente alors que la proportion de lipides oxydés diminue simultanément. Lorsque l'intensité de l'exercice est rapportée aux capacités aérobies individuelles ($\% \text{VO}_2\text{max}$), un modèle de sélection de substrat général émerge entre les lipides et les glucides (Brooks et Mercier 1994; McClelland 2004; Roberts et al. 1996; Weber et Haman 2017) (figure 6).

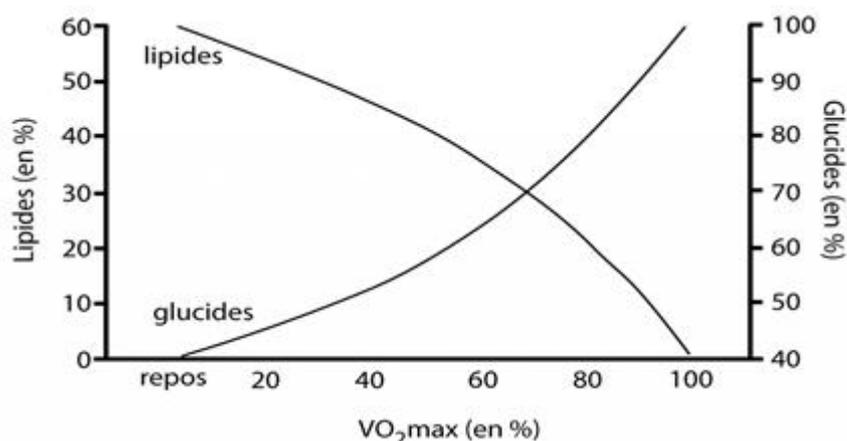


Figure 6 : Part relative d'utilisation des lipides et des glucides en fonction de l'intensité de l'effort. Plus l'intensité augmente, plus la part des glucides est importante. (Brooks et Mercier 1994a)

Les régimes nutritionnels inhabituellement riches en graisse (Jansson et Kaijser 1982; Phinney et al. 1983) ainsi que les différences entre les sexes (Horton et al. 1998) ont révélé des écarts par rapport au modèle. Cependant, il n'existe toujours aucune explication claire de ces différences observées. De plus, il a été montré que l'entraînement en endurance accroît la capacité d'oxyder les lipides en augmentant la masse mitochondriale musculaire et les enzymes de la β -oxydation (Brooks et Mercier 1994b; Brooks 1997) et ainsi l'entraînement peut modifier le modèle. D'autres situations dans lesquelles un changement d'utilisation des substrats énergétiques est attendu et qui méritent d'être étudiées, pourrait être l'exposition à de plus faibles niveaux d' O_2 , comme lors d'une exposition à l'altitude.

Afin de caractériser une intensité d'exercice, il semble indispensable de mesurer la consommation maximale d'oxygène des sujets.

2. La consommation maximale d'oxygène à l'exercice

L'Homme pour produire de l'énergie a besoin de nutriments mais aussi d' O_2 lorsque l'effort se prolonge et que la production d'énergie est principalement aérobie. Plus le sportif pourra amener d' O_2 à ses muscles et plus il pourra produire d'énergie par la voie aérobie. Depuis les années 20, les chercheurs sont d'accord pour dire qu'il existe un seuil au-delà duquel la consommation d' O_2 à l'exercice ne peut plus augmenter (Lupton et Hill 1923), c'est la consommation maximale d'oxygène ($\dot{V}O_2\text{max}$). Elle permet de connaître l'aptitude des systèmes cardio-ventilatoire et musculaire à prélever l' O_2 de l'air ambiant, à l'amener aux muscles actifs et à l'utiliser pour resynthétiser l'ATP nécessaire à l'exercice. La $\dot{V}O_2\text{max}$ est un excellent témoin de la capacité maximale du système cardiorespiratoire (Hawkins et al.

2007). Plus la $\dot{V}O_2\text{max}$ est élevée, plus la quantité d' O_2 apportée au muscle sera importante et plus les performances aérobies seront élevées (Lundby et Robach 2015).

La limitation de la $\dot{V}O_2\text{max}$ serait due à 70 - 75% aux résistances cardio-circulatoires qui sont décrites par l'équation de Fick:

$$\dot{V}O_2 = \dot{Q}_c \times (CaO_2 - CvO_2) = FC \times VES \times [\beta b \times (PaO_2 - PvO_2)] \quad (\text{Equation 4})$$

Où \dot{Q}_c : débit cardiaque ($l \cdot \text{min}^{-1}$) ; CaO_2 , CvO_2 : contenus artériel et veineux en O_2 ($ml \cdot kg^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) ; FC : fréquence cardiaque (bpm) ; VES : volume d'éjection systolique ($l \cdot \text{bat}^{-1}$) ; βb : pente de la courbe de dissociation de l' O_2 ; PaO_2 , PvO_2 : pressions partielles artérielle et veineuse en O_2 (mmHg).

Les 25-30% de la limitation de la $\dot{V}O_2\text{max}$ restants se situeraient au niveau périphérique, répartis entre la perfusion/diffusion musculaire et l'activité oxydative mitochondriale (Di Prampero 2003).

Les adaptations de l'organisme soumis à un stimulus extérieur peuvent moduler l'homéostasie. Cela peut être le cas lors d'une exposition à l'altitude ou lors d'un exercice physique au cours duquel la demande en énergie et en O_2 augmente de façon trop importante. Or l' O_2 n'est pas stocké dans l'organisme, il doit être prélevé dans l'air et ensuite être apporté aux mitochondries. Pour ce faire, après être entré dans les poumons, l' O_2 doit traverser la barrière alvéolo-capillaire pour arriver dans le sang où la majorité de l' O_2 fixé sur l'hémoglobine est transportée jusqu'aux muscles. Ensuite, l' O_2 doit encore passer des capillaires aux mitochondries musculaires pour pouvoir participer à la synthèse d'ATP. C'est donc un long trajet composé de plusieurs obstacles à surmonter que doit parcourir l' O_2 . Les différents éléments en présence sont organisés sous forme d'une chaîne et l'ensemble représente une structure couramment appelée chaîne cardio-respiratoire. Elle est constituée de différents maillons qui sont complémentaires : le maillon pulmonaire, le maillon cardiovasculaire et le maillon musculaire (Figure 7).

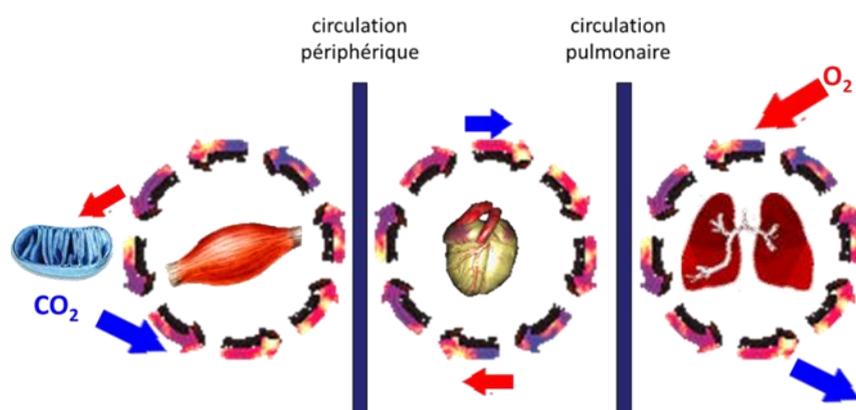


Figure 7 : La chaîne cardio-respiratoire et ses différents maillons (Durand et Jornet, 2012).

Dans la suite du manuscrit, nous allons expliquer comment l'organisme peut répondre lors d'un exercice physique en altitude, condition dans laquelle il est confronté à une moindre disponibilité en O₂.

II. Réponses physiologiques à l'altitude

1. Altitude et stress hypoxique

Le stress hypoxique se produisant en altitude est lié au phénomène physique de pression partielle dans un mélange gazeux. La loi Dalton indique que pour une même température, la pression totale d'un mélange gazeux est égale à la somme des pressions qu'exerceraient chacun des gaz s'il occupait seul le volume total.

$$P_{atm} = \sum P_p$$

$$P_p \text{ gaz} = P_{atm} \times \% \text{ gaz}$$

(Equation 5)

P_{atm} = pression atmosphérique; $\sum P_p$ = somme des pressions partielles des gaz contenus dans l'air; $P_p \text{ gaz}$ = pression partielle d'un gaz ; % gaz = pourcentage du gaz dans le mélange total.

Plus l'altitude réelle augmente, plus la pression atmosphérique (P_{atm}) diminue. Donc comme la P_{atm} diminue et que % O₂ est constant, la P_{pO_2} diminue. La P_{atm} est de 760 mmHg en

plaine et elle diminue d'un tiers à 3000 m et de moitié à 5000 m. Comme l'air contient toujours 20,94% d'oxygène (Dill et Evans 1970), plus l'altitude augmente, plus la PpO₂ diminue (tableau 1).

Tableau 1 : Evolution de la pression atmosphérique (Patm), et de la pression partielle en O₂ (PpO₂) de l'air ambiant en fonction de l'altitude.

Altitude (m)	Patm (mmHg)	PpO ₂ (mmHg)
0	760	159
1000	674	141
2000	596	125
3000	526	110
4000	462	97
5000	405	85
6000	354	74
7000	308	65
8000	267	56
9000	231	48

Dans l'air ambiant en plaine, la PpO₂ est de 159 mmHg. Le réchauffement et l'humidification de l'air, par les voies respiratoires, créent de la vapeur d'eau qui contribue à faire diminuer la pression inspirée en O₂ (PIO₂). Au niveau de la mer, la PIO₂ est d'environ 150 mmHg. La PIO₂ est définie par la formule suivante :

$$PIO_2 = (Patm - \text{pression de vapeur d'eau}) \times \text{fraction inspirée en O}_2 \quad \text{(Equation 6)}$$

La pression de la vapeur d'eau est de 47 mmHg et la fraction inspirée en O₂ est toujours de 20,94 %. De ce fait, plus la Patm diminue, plus la PIO₂ diminue.

En plaine, la PIO₂ est le point de départ de la cascade de l'O₂ qui conditionne le trajet de l'O₂ dans l'organisme, comme le montre la figure 8.

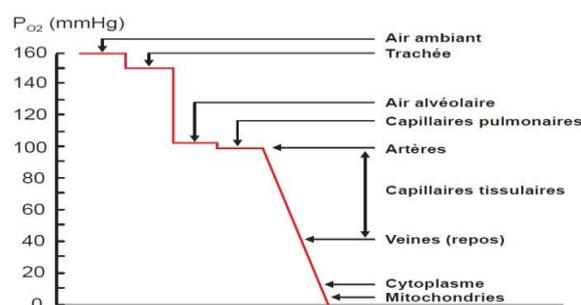


Figure 8 : Cascade de l'O₂ dans l'organisme en plaine

En altitude, la baisse de P_{iO_2} induit une baisse de la P_{IO_2} ce qui a des conséquences sur l'ensemble du transport et de l'utilisation de l' O_2 , et ce des poumons jusqu'aux muscles (Calbet et al. 2009) (Figure 9). Dans les poumons, la pression alvéolaire en O_2 (PAO_2), qui est la pression en O_2 dans les alvéoles, est la première impactée par la baisse de P_{IO_2} puisqu'elle en est directement dépendante :

$$PAO_2 = (PIO_2 - (PACO_2 / \text{quotient respiratoire}) + \text{constante}$$

(Equation 7)

La baisse de la P_{IO_2} entraîne une diminution du nombre de molécules d' O_2 disponibles pour le fonctionnement des mitochondries, c'est l'état d'hypoxie (Cerretelli 1976). Plus précisément, l'hypoxie est définie comme un apport en O_2 insuffisant pour satisfaire la demande tissulaire en O_2 nécessaire à la production d'ATP. Nous expliquerons dans la suite du manuscrit les mécanismes qui conduisent à cette baisse de quantité d' O_2 jusqu'aux muscles pouvant avoir des conséquences sur les voies énergétiques mises en jeu lors d'un exercice en altitude.

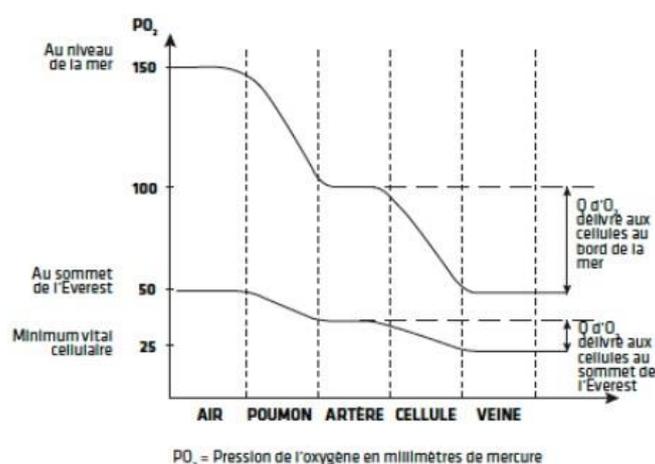


Figure 9 : Effet de l'altitude sur la diminution de la PO_2 dans la cascade de l'oxygène (Etienne, 1990)

Face à cet état d'hypoxie, l'organisme va réagir pour fournir aux cellules l' O_2 dont elles ont besoin. La baisse de la pression artérielle (PaO_2) qui est la pression exercée par l' O_2 dans le sang artériel est le premier stimulus à l'origine des adaptations physiologiques en altitude. Deux phases successives de l'exposition à l'altitude sont différenciées en fonction de ces adaptations (Millet et al. 2011). L'accommodation ou l'hypoxie aiguë qui est une exposition de plusieurs heures à plusieurs jours (Millet et al. 2011), pendant cette période l'organisme va mettre en jeu des mécanismes immédiatement disponibles pour contrebalancer la baisse de

l'apport d'O₂ en périphérie. L'acclimatation ou l'hypoxie chronique qui se produit lorsque l'exposition à l'altitude se prolonge au-delà d'une semaine. Pendant cette période, des procédés pour améliorer la capacité de transport de l'O₂ avec de meilleurs rendements énergétiques que lors de l'hypoxie aiguë se mettent en place. Dans cette revue de la littérature, nous n'aborderons que les connaissances concernant la phase d'hypoxie aiguë, condition environnementale de notre travail.

2. Modulation de la réponse à l'hypoxie

Les modulations de la réponse à l'altitude peuvent être influencées par plusieurs paramètres.

a) En fonction de l'altitude

En fonction de l'altitude et du stress hypoxique, les réponses de l'organisme sont plus ou moins importantes. A partir de ce bilan, Bärtsch et Saltin en 2008 ont proposé une classification des altitudes :

Niveau proche de la mer (entre 0 et 500 m.): aucun effet de l'altitude sur le bien-être ou les performances athlétiques.

Faible altitude (entre 500 et 2 000 m): aucun effet de l'altitude sur le bien-être mais une baisse significative de performance possible, en particulier chez les athlètes très entraînés et au-dessus de 1 500 m. Cet effet peut être inversé par une acclimatation à cette altitude.

Altitude modérée (entre 2 000 et 3 000 m): l'altitude a des effets sur le bien-être chez les sujets non acclimatés avec des troubles mineurs du sommeil et/ou des symptômes de mal aigu des montagnes (MAM). Le malaise est transitoire au cours des premiers jours. La performance aérobie diminue de manière significative avec une grande variabilité interindividuelle chez les athlètes très entraînés. Cependant, le MAM peut être surmonté en grande partie par une acclimatation.

Haute altitude (entre 3 000 et 5 500 m): Le MAM se produit chez un grand nombre d'individus non acclimatés pendant les premiers jours d'exposition. Les personnes sensibles peuvent développer un œdème pulmonaire de haute altitude (OPHA) au-dessus de 3 000 m, et un œdème cérébral de haute altitude au-dessus de 4 000 m, pouvant nécessiter une descente. Une ascension progressive est recommandée pour éviter ces pathologies. L'altitude réduira considérablement la performance même après une acclimatation complète.

Altitude extrême (au-dessus de 5 500 m): 5 500 m semble être le plafond pour l'adaptation à long terme chez l'Homme. La vie permanente semble impossible après plus de 5 semaines à 5

500 m. Il y a une altération de l'état général : perte de masse corporelle et diminution des capacités cognitives.

Il semble important de différencier les différents niveaux d'altitude lors de l'interprétation de l'adaptation de l'organisme au stress hypoxique. La plupart des études réalisées dans le cadre de la compréhension des effets de l'altitude sur la physiologie et les métabolismes à l'effort se sont déroulées à des altitudes supérieures à 3 000 m. Comme les centres d'entraînement ou les lieux des compétitions se situent en altitude modérée (Annexe 1), il semble important de comprendre, en plus des adaptations cardio-respiratoires, les mécanismes d'adaptation métabolique de l'organisme en altitude modérée.

b) En fonction du niveau d'entraînement

La réponse à l'altitude est influencée par des paramètres inter-individuels. Un des facteurs pouvant influencer la réponse à l'altitude est le niveau d'entraînement. Effectivement les effets de l'altitude sont perceptibles à des niveaux d'hypoxie plus bas chez les sujets entraînés que chez les sédentaires. De plus, la diminution de la $\dot{V}O_2\text{max}$ est plus importante chez des sujets entraînés que chez des sujets sédentaires, cette différence serait due à une désaturation artérielle en O_2 plus importante chez les athlètes (Gore et al. 1996; Mollard et al. 2008).

c) En fonction du type d'hypoxie

Aujourd'hui des techniques de simulation de l'altitude existent et sont utilisées en recherche pour la compréhension des mécanismes adaptatifs à l'altitude. L'avantage est de pouvoir simuler l'altitude désirée au laboratoire. Une grande partie des recherches sur l'altitude utilise ces techniques. En hypoxie réelle, la P_{atm} diminue avec l'augmentation de l'altitude. En hypoxie simulée, l'instrumentation va diminuer la fraction inspirée d' O_2 . Dernièrement, des auteurs ont mis en avant que l'hypoxie hypobarique et l'hypoxie normobarique n'auraient pas les mêmes effets sur les adaptations à l'effort (Conkin et Wessel 2008; Millet et al. 2012; Richard et Koehle 2012; DiPasquale et al. 2017). Cette hypothèse s'appuie sur les résultats de plusieurs recherches portant sur différents paramètres tels que la ventilation (\dot{V}_E) (Loeppky et al. 1997; Savourey et al. 2003), le volume plasmatique (Loeppky et al. 2005), le mal aigu des montagnes (Fulco et al. 2011; Roach et al. 1996; Schommer et al. 2010), le métabolisme de l'oxyde nitrique (Hemmingsson et Linnarsson 2009; Kayser 2009) et la performance sportive (Bonetti et Hopkins 2009; Feriche et al. 2014; Saugy et al. 2014). D'après ces chercheurs, l'altitude réelle engendrerait des réponses plus sévères que l'altitude simulée. Il semble donc

intéressant de travailler en altitude réelle pour être au plus proche des conditions de pratique des sports de montagne et pour ainsi observer les modifications physiologiques spécifiques à cet environnement.

3. Réponses respiratoires à l'altitude

La réponse respiratoire fait intervenir deux mécanismes qui sont la ventilation et les échanges gazeux. Ce sont eux qui conditionnent la quantité d'oxygène entrant dans l'organisme et circulant dans le sang artériel.

a) L'hyperventilation

La première réponse à l'hypoxie est la réponse ventilatoire (Schoene 1997). Afin de limiter la chute de la PaO₂ due à l'hypoxie, une hyperventilation réflexe se met en place (Dempsey et al. 1977; Rice et al. 1999). L'hyperventilation est une accélération et une amplification de la ventilation ($\dot{V}E$).

$$\dot{V}E \text{ (l. min}^{-1}\text{)} = V_T \times F_R \quad \text{(Equation 8)}$$

V_T = volume courant (volume d'air inspiré ou expiré à chaque mouvement respiratoire, en litres) et F_R = fréquence respiratoire (est le nombre de cycles respiratoires (inspiration et expiration) par unité de temps, en cycles.min⁻¹).

La ventilation augmente de manière hyperbolique avec la chute de PaO₂ et de la saturation artérielle en O₂ (SaO₂).

Mécanismes impliqués dans l'hyperventilation

Plus l'altitude augmente et plus la PAO₂ diminue et entraîne une diminution de la PaO₂. Vers 2 500m la PaO₂ diminue en dessous de 60 mmHg alors la $\dot{V}E$ augmente par stimulation des chémorécepteurs périphériques (Schoene 2005; Dempsey et Forster 1982). Ainsi la ventilation alvéolaire, qui est l'air qui entre dans les alvéoles, augmente (Heymans et Bouckaert 1930). En effet, les corpuscules carotidiens sont sensibles aux changements de PaO₂ et les corpuscules aortiques sont sensibles au changements de SaO₂ (Lahiri et al. 1981). Les chémorécepteurs agissent en augmentant la fréquence de décharges le long du nerf crânien qui conduit les impulsions directement au centre respiratoire. Finalement, le centre respiratoire active le diaphragme et les muscles respiratoires afin d'augmenter l'amplitude et

la fréquence de la respiration. L'augmentation de la \dot{V}_E passe par une augmentation du V_T grâce à l'augmentation du travail des muscles respiratoires (Dempsey et Forster 1982). La F_R ne change pas jusqu'à 6 000 m.

L'hyperventilation provoque une diminution de la pression artérielle en CO_2 (PaCO_2) et une augmentation du pH à cause de l'augmentation du rejet de CO_2 . Cette alcalose respiratoire inhibe les chémorécepteurs centraux et finalement, limite l'hyperventilation (Schoene 2005). Donc en hypoxie aiguë, les chémorécepteurs aortiques augmentent la \dot{V}_E alors que les chémorécepteurs centraux vont plutôt limiter l'augmentation de la \dot{V}_E (figure 10).

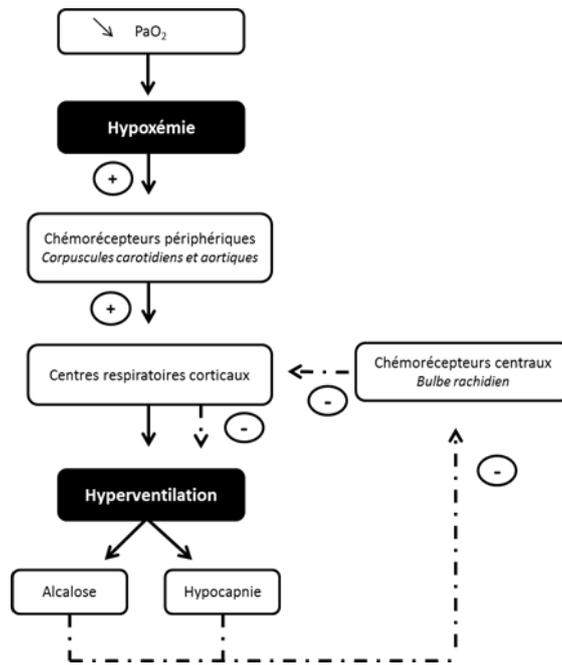


Figure 10 Mécanismes du contrôle de la ventilation en altitude.

L'hyperventilation permet l'augmentation de la PAO_2 et de la PaO_2 mais pas suffisamment pour atteindre les niveaux de la plaine (P. D. Wagner et al. 1986). Finalement, cette baisse de PAO_2 , PaO_2 et de SaO_2 , réduit le CaO_2 et le transport d' O_2 vers les tissus (Fulco, Rock, et Cymerman 1998) comme le démontre l'équation suivante :

$$\text{CaO}_2 = ([\text{Hb}] \times \text{SaO}_2 \times 1,39) + (\text{PaO}_2 \times 0,0031) \quad \text{(Equation 9)}$$

[Hb] représente la concentration sanguine en hémoglobine (Hb), SaO_2 la saturation artérielle en O_2 , 1,39 est le coefficient de fixation de l' O_2 sur Hb, PaO_2 est la pression artérielle en O_2 et 0,0031 est le coefficient de solubilité de l' O_2 dans le sang.

Evolution de la ventilation lors d'un exercice en hypoxie

Lors d'un exercice sous maximal en altitude, la $\dot{V}E$ est augmentée pour une puissance ou une vitesse égale par rapport à la plaine que ce soit en moyenne ou en haute altitude (Calbet et al. 2003a, Calbet et al. 2003b; Dempsey et al. 1977, Wehrlin et Hallén 2006). Lorsque l'exercice est maximal, pour des altitudes inférieures ou égales à 2 800 m, il semblerait que la $\dot{V}E$ augmenterait de 2,1% tous les 1 000 m (Wehrlin et Hallén 2006). A 3 000m, Lawler et al. (1988) ont observé une augmentation de 10% de la $\dot{V}E_{max}$. En revanche, d'autres études n'ont montré aucune différence de $\dot{V}E_{max}$ entre la plaine et la moyenne ou la haute altitude (Mollard et al., 2007b, Gaston et al., 2016). Il semblerait donc que si la $\dot{V}E_{max}$ puisse être légèrement augmentée en moyenne altitude, elle ne soit pas augmentée en haute altitude.

Chez les athlètes entraînés en endurance, la VE à l'exercice sous maximal est aussi augmentée en altitude (Calbet et al. 2003a, Wehrlin et Hallén 2006). En revanche, à l'exercice maximal, la VE diminue à partir de 3 000m (Mollard et al., 2007b, Benoit et al. 1995). A 5 300 m, Calbet et al. (2003) ont observé une diminution de 22 % de la $\dot{V}E_{max}$ chez des athlètes entraînés en endurance. La diminution de la $\dot{V}E_{max}$ en altitude pourrait s'expliquer par le coût énergétique plus important du travail des muscles respiratoires. Car même si la densité de l'air diminue avec l'augmentation l'altitude, la part de $\dot{V}O_2$ nécessaire pour soutenir le travail des muscles respiratoires en altitude est supérieure par rapport au niveau de la mer (Schoene 2005). L'hyperventilation va donc consommer une part plus importante de l'énergie et peut générer une fatigue supplémentaire. Le coût de la ventilation deviendrait peut être trop important par rapport à la quantité d' O_2 captée par les poumons. De plus, chez les sportifs entraînés en endurance, la sensibilité des chémorecepteurs périphériques est généralement plus faible que chez les sédentaires (Mollard et al., 2007b, 2007c) ce qui pourrait aussi expliquer leur limitation de la $\dot{V}E_{max}$.

b) Les échanges gazeux

Le passage de l' O_2 à travers la membrane alvéolo-capillaire (échange gazeux) se fait grâce à un phénomène purement physique, la diffusion. La diffusion est le passage de l' O_2 des alvéoles au sang, grâce à l'existence d'un gradient de pression entre la PAO_2 et la PaO_2 . La diffusion à travers les tissus est décrite par la loi de Fick qui établit que le débit de transfert d'un gaz à travers une couche de tissu est proportionnel à sa surface ainsi qu'à la différence de pression partielle du gaz entre ces deux surfaces, et inversement proportionnelle à l'épaisseur

du tissu. Le volume d'O₂ qui diffuse par unité de temps est donc représenté par la formule suivante :

$$\dot{V}O_2 = D \times \frac{S}{e} \times (PAO_2 - PaO_2)$$

(Equation 10)

Avec D = constante de diffusion qui est fonction des propriétés du tissu ainsi que du gaz considéré ; s = surface de l'aire de diffusion; e = épaisseur de la membrane, PAO₂-PaO₂ = gradient de pression alvéolo-capillaire.

L'efficacité des échanges gazeux pulmonaires est reflétée par la différence alvéolo-artérielle en O₂ (D(A-a)O₂). La D(A-a)O₂ est la différence entre la PAO₂ calculée à l'aide l'équation des gaz alvéolaires et la PaO₂ mesurée.

$$D(A-a)O_2 = PAO_2 - PaO_2$$

(Equation 11)

Au repos, la D(A-a)O₂ n'est pas modifiée entre la plaine et l'altitude (Wagner et al. 2002). Par contre, lors d'un exercice en altitude, la D(A-a)O₂ s'intensifie avec l'augmentation de l'intensité du travail, traduisant un trouble des échanges gazeux (Calbet et al. 2003a; Lovering et al. 2008). Ce trouble a été mesuré dès 3 000 m (Torre Bueno et al. 1985 et Wagner et al. 1987) et apparaît encore plus marqué à 4 500 m (Lovering et al. 2008) puis à 5 300m (Calbet et al. 2003a). Plus les sujets sont entraînés et plus l'augmentation de la D(A-a)O₂ est importante surtout à partir de 4 500 m (Mollard et al. 2007).

Plusieurs phénomènes peuvent être à l'origine du trouble des échanges gazeux comme le montre la figure 11: la présence de shunts pulmonaires, une inégalité du rapport $\dot{V}A/\dot{Q}$ et une limitation de la diffusion alvéolo-capillaire.

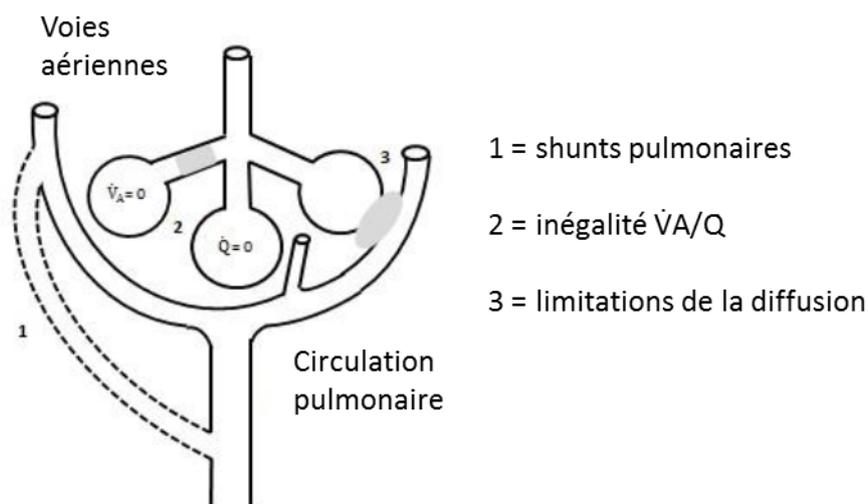


Figure 11 Hypothèses explicatives du trouble des échanges gazeux

En altitude, il est maintenant bien acquis que la limitation de la diffusion alvéolo-capillaire est le principal mécanisme explicatif du trouble des échanges gazeux (Wagner et al. 1987, 1986). La présence de shunts pulmonaires et l'inégalité du rapport \dot{V}_A/\dot{Q} ont une contribution minoritaire (Torre-Bueno et al. 1985 ; Hopkins 2006).

D'un point de vue physiologique, la diminution de la PAO_2 en altitude provoque la baisse du gradient de pression alvéolo-capillaire, et ce de manière proportionnelle avec l'augmentation de l'altitude (Wagner 2000). Or, comme nous l'avons vu précédemment, le gradient de pression alvéolo-capillaire est un paramètre déterminant de la diffusion pulmonaire. Il a été montré qu'une baisse du gradient de pression de 1 mmHg correspond à 23 ml d' O_2 en moins dans le sang. Ainsi, 50 à 60% de l'augmentation de la $D(A-a)O_2$ à l'exercice sous maximal est expliqué par la limitation de la diffusion alvéolo-capillaire, et ce pourcentage augmente avec l'intensité de l'exercice (Torre-Bueno et al. 1985).

La diffusion dépend aussi de la surface d'échange gazeux et de l'épaisseur de la membrane alvéolo-capillaire, comme le montre l'équation de Fick. Il a été montré qu'un OPHA peut apparaître lors d'une ascension rapide à des altitudes supérieures à 2 500 m (Stream et Grissom 2008). De plus, l'exercice peut favoriser l'OPHA (Durand et Préfaut 2000). L'effet d'une pression sanguine trop importante dans les capillaires pulmonaires provoque des altérations structurelles rendant la barrière alvéolo-capillaire plus perméable. Ceci provoque une rupture des membranes endothéliales et/ou épithéliales des capillaires pulmonaires entraînant une fuite de fluide et de solutés, ce qui induit un œdème interstitiel ainsi que l'initialisation d'un phénomène inflammatoire avec libération de marqueurs spécifiques (Ge et

al. 1997). L'accumulation de liquide dans les espaces péri-vasculaires et péri-bronchiques provoque l'augmentation de l'épaisseur de la membrane alvéolo-capillaire et donc limite la diffusion pulmonaire et diminuer la surface d'échange en augmentant l'hétérogénéité du rapport $\dot{V}A/Q$ (Podolsky et al. 1996).

Synthèse

A l'exercice en altitude, les réponses pulmonaires constatées ont des conséquences très différentes : une hyperventilation permettant une limitation de l'hypoxémie et une altération des échanges gazeux qui, à l'inverse, augmente l'hypoxémie.

4. Réponses hématologiques à l'altitude

En altitude, la baisse de la pression hygrométrique associée à l'hyperventilation, augmente les pertes en eau par les voies respiratoires et favorise la déshydratation. Quelques heures en altitude suffisent à diminuer le volume plasmatique provoquant une augmentation de la concentration en Hb. En hypoxie aiguë, cette hémoco-concentration a déjà été interprétée à tort comme une augmentation du nombre de globules rouges circulants. En effet l'augmentation des globules rouges ne peut pas se faire avant 3 à 4 jours puisqu'il s'agit du temps nécessaire entre l'augmentation de l'érythropoïétine (EPO) et la libération de jeune globule rouge (Fisher 1993). L'augmentation de la masse des globules rouges se fait donc lors de la phase d'hypoxie chronique, non traité dans ce travail qui concerne la phase d'hypoxie aiguë. La sécrétion d'EPO commence après 90 min d'exposition pour atteindre un pic au bout de 24 à 48 h. La sécrétion d'EPO a été observée à moins de 2 000 m d'altitude (Ge et al. 2002) et est accentuée avec l'augmentation de l'altitude. En effet, Richalet et al. (1999) ont montré qu'à 2 000 m la sécrétion d'EPO est augmentée de 20 à 30% alors qu'à 4 500 m, elle est augmentée de 300%. La sécrétion d'EPO présente une forte variabilité interindividuelle qui serait expliquée par des facteurs génétiques et qui amené la notion de répondeurs et non répondeurs à l'altitude. En effet 24h après une exposition à 2 800 m, il a été montré que la sécrétion d'EPO variait entre -41 et + 400% de la valeur mesurée en plaine (Ge et al. 2002).

5. Réponses cardiovasculaires à l'altitude

Le maillon cardiovasculaire est représenté par le système cardiovasculaire, entraîné par le muscle cardiaque, qui a pour principal rôle de faire circuler le sang dans l'organisme. Par le biais de la circulation pulmonaire, il permet d'acheminer le sang riche en O₂ des poumons vers le cœur et le sang pauvre en O₂ du cœur vers les poumons. Mais il permet surtout d'amener le sang riche en O₂ vers les tissus et d'évacuer le sang pauvre en O₂ vers le cœur.

a) Débit cardiaque

Actuellement, il n'y a pas de consensus sur les mécanismes explicatifs de la modification du \dot{Q}_c en hypoxie aiguë. Lors de la première phase d'exposition à l'altitude, le \dot{Q}_c au repos ne semble pas affecté (Hopkins et al. 2003; Wagner et al. 1987; Wolfel et al. 1991) ou seulement faiblement augmenté (Wagner et al. 1986). Lors d'un exercice sous-maximal, il est maintenant bien établi que le \dot{Q}_c en altitude est augmenté par rapport à la plaine pour une même intensité d'exercice (Stenberg et al. 1966; Wagner 2000; Boos et al. 2016). Pour un exercice maximal, certains auteurs ont montré que le \dot{Q}_{cmax} n'est pas diminué mais apparaît à une intensité d'exercice maximale inférieure en altitude comparée à celle de la plaine (Horstman et al. 1980; Hughes et al. 1968; Wagner et al. 1987; Stenberg et al. 1966; Wagner et al. 1986). Ces mêmes auteurs ont observé que le \dot{Q}_{cmax} reste identique pour des altitudes jusqu'à 4 500 m que ce soit chez des sédentaires ou des sportifs. Très récemment, Faoro et al. (2017) ont montré qu'à 2 150 m le \dot{Q}_{cmax} est le même qu'en plaine.

D'autres auteurs ont mis en évidence que le \dot{Q}_{cmax} serait diminué en altitude par rapport à la plaine, quel que soit le niveau d'altitude (Calbet et al. 2008; Ghofrani et al. 2004; Hopkins et al. 2003; Peltonen et al. 2001). Ce mécanisme limite l'apport d'O₂ en périphérie, mais protègent le cœur contre une demande énergétique trop forte. En effet, la FC étant un déterminant important de la consommation d'O₂ du myocarde, une hypoxie sévère pourrait être incompatible avec la fourniture d'O₂ nécessaire au myocarde pour produire une tachycardie intense. De fait, les indices de contractilité sont augmentés de par l'activation adrénergique. La fonction cardiaque systolique n'est jamais altérée chez un cœur sain, même à des altitudes très élevées (8 000 m) : la fraction d'éjection y est élevée (du fait de la stimulation adrénergique) (Boussuges et al. 2000). Le diamètre télédiastolique du ventricule gauche est légèrement diminué, sans doute du fait d'une gêne au remplissage liée à la légère dilatation des cavités droites due à l'augmentation de pression artérielle pulmonaire (Boussuges et al. 2000).

Le débit cardiaque s'exprime par : $\dot{Q}_c = \text{VES} \times \text{FC}$. La modification du débit cardiaque passe donc par des modifications du VES et/ou de la FC, que nous détaillons dans les parties suivantes.

b) Fréquence cardiaque

Pour des altitudes modérées, la FC ne change pas au repos (Sime et al. 1974; Stowhas et al. 2013) mais elle est augmentée en haute altitude (Grover et al. 1986; Klausen 1966; Reeves et al. 1987). A l'exercice sous-maximal que ce soit en moyenne altitude ou en haute altitude, la FC augmente par rapport à la plaine (Peltonen et al. 2001; Reeves et al. 1987). En revanche, il semble que la FCmax diminue progressivement avec l'augmentation de l'altitude (figure 12). A 2 150 m, il n'y a pas de différence de FCmax entre l'altitude et la plaine que ce soit chez des athlètes ou des sédentaires (Gaston et al. 2016) A 2 700 m, Peltonen et al. (2001) ont mesuré une faible mais significative diminution de FCmax (177 ± 15 vs 181 ± 11 bpm). A 6 000 m, il a été montré que la FCmax peut diminuer de 25 bpm (Lundby et al. 2001).

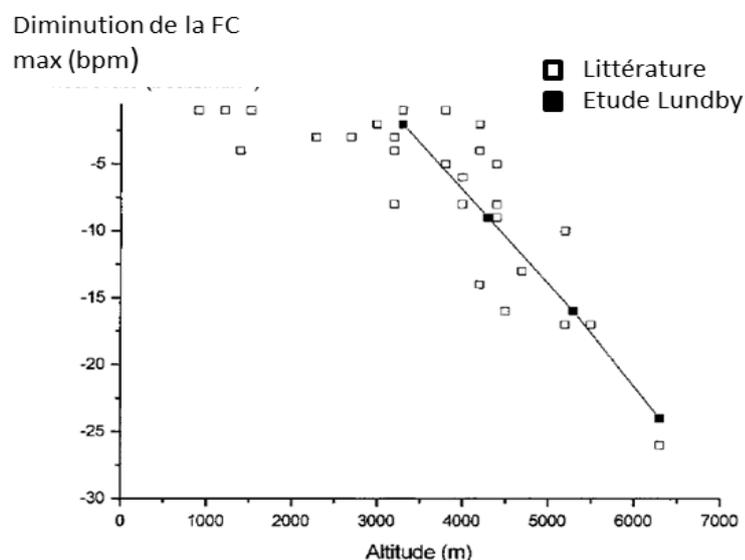


Figure 12 : Diminution de la FCmax (différence entre les valeurs en plaine et en altitude) en hypoxie aiguë. Les résultats présentés sont une compilation de 28 études différentes (Lundby et al., 2001a).

Le niveau d'entraînement des sujets peut influencer la modulation de la FCmax en altitude. Certaines études ont montré que les sujets entraînés subissent une perte plus importante de FCmax en altitude comparée à la plaine (Benoit et al. 2003; Martin et O'Kroy 1993; Mollard

et al. 2007) contrairement à d'autres auteurs qui ont montré une baisse de FCmax identique chez les sujets entraînés et sédentaires (Chapman, Emery, et Stager 1999; Gore et al. 1996; Lawler, Powers, et Thompson 1988; Squires et Buskirk 1982).

Mécanisme de régulation de la FC

L'hypoxémie induite lors de la montée en altitude active l'axe sympathico-adrénergique par le biais des chémorécepteurs et du réflexe d'hyperventilation (Cunningham, Becker, et Kreuzer 1965). Proportionnellement au degré d'hypoxie, l'activité sympathique va induire une stimulation des récepteurs cardiaques β -adrénergiques par les nerfs cardiaques sympathiques et par la sécrétion d'adrénaline (Mazzeo 2008). Ainsi la concentration urinaire et plasmatique en adrénaline augmente rapidement après une exposition aiguë en altitude (Hopkins et al. 2003; Mazzeo et al. 1994), tandis que celle de la noradrénaline augmente au bout de plusieurs jours d'exposition (Mazzeo et al. 1994; Reeves et al. 1992; Richalet et al. 1989). Parallèlement à la stimulation sympathique, il a été observé une diminution de l'activité du système parasympathique (Hughson et al. 1994), expliquant la tachycardie observée au repos et à l'exercice sous-maximal en altitude par rapport à la plaine. Le mécanisme de la baisse de la FCmax en altitude n'est pas encore clairement établi. Lundby et al. (2001) ont montré que lors d'un exercice maximal en hypoxie, la concentration de noradrénaline est stable par rapport à la normoxie. Il semblerait que la détérioration des récepteurs β -adrénergiques cardiaques provoque une désensibilisation post-ganglionnaire et donc la baisse de FCmax (Lundby et al. 2001).

c) Volume d'éjection systolique

Que ce soit en moyenne altitude ou en haute altitude, le VES au repos ou à l'exercice sous-maximal varie très peu. Il a été montré que le VES reste constant ou diminue légèrement en altitude par rapport à la plaine (Grover et al. 1986; Hopkins et al. 2003; Peltonen et al. 2001; Wagner et al. 1986; Wolfel et al. 1991). En revanche, pour d'autres auteurs, le VESmax semble plus faible en altitude qu'en plaine mais ceci n'est pas clairement démontré (Hopkins et al. 2003; Peltonen et al. 2001).

Le VES peut être influencé par plusieurs facteurs :

La contractilité et l'hypoxie du myocarde. En altitude, il a été suggéré que la baisse de disponibilité en O₂ pourrait limiter la fonction contractile du cœur (Alexander et al. 1967; Noakes et al. 2001), mais Boussuges et al. (2000) ont montré qu'il n'y a pas d'altération de la

fonction myocardique même en très haute altitude. De plus, Sutton et al. (1988) ont montré qu'à 7 625m à l'exercice, alors que le \dot{Q}_{cmax} est diminué de 40 à 50%, l'approvisionnement en O_2 du myocarde est maintenu. Wyss et al. (2003) ont montré que même lorsque le CaO_2 diminuait et que la $\dot{V}O_2$ augmentait, le transport d' O_2 dans le myocarde était maintenu.

La diminution de la pré-charge. La pré-charge correspond au sang qui entre dans les ventricules avant leur contraction. En altitude, une sortie d'eau de l'espace vasculaire accrue, une perte plus élevée de vapeur d'eau causée par l'hyperventilation et l'environnement sec et une plus grande sudation entraînent une diminution du volume plasmatique et donc une diminution du volume sanguin (Hogan et al. 1973). Mais à l'heure actuelle, aucune étude n'a montré une baisse de la pré-charge lors d'une exposition aiguë à l'altitude.

L'augmentation de la post-charge. La post-charge est l'opposition à l'écoulement du sang lorsqu'il est éjecté du ventricule et qu'il rencontre la masse sanguine présente dans les vaisseaux. Lors d'une exposition à l'altitude, une vasoconstriction pulmonaire hypoxique (VPH) peut se mettre en place (Fishman 1976; Reid 1986), par stimulation des chémorécepteurs périphériques (Heistad et Abboud 1980) qui vont provoquer une constriction du muscle lisse vasculaire dans les artères pulmonaires. Ce mécanisme a pour but de redistribuer le débit sanguin pulmonaire vers les zones bien ventilées afin d'améliorer les échanges gazeux. Le but final étant d'essayer de maintenir la PaO_2 de plaine et le transport d' O_2 vers les tissus (Brimioulle et al. 1996). La VPH conduit à une hypertension pulmonaire augmentant ainsi la post-charge ventriculaire droite (Garcia et al. 1999). La VPH peut provoquer un œdème pulmonaire et/ou une défaillance de la partie droite du cœur (Maggiorini et Léon-Velarde 2003; Reeves et al. 1987). De plus, Louie et al. (1992) ont montré qu'une surcharge de pression chronique dans le ventricule droit peut provoquer une réduction du VES du ventricule gauche. L'hypertension pulmonaire hypoxique consécutive à la VPH augmente avec l'altitude (Penaloza et Arias-Stella 2007) comme le montre la figure 13 et ce au repos et dès 2 000 m (P. Bärtsch et Saltin 2008). A 2500 m, les valeurs de pressions artérielles pulmonaires se situent autour de 15 mmHg alors qu'en haute altitude, vers 4 000 m, elles sont de l'ordre de 25 mmHg (Penaloza et Arias-Stella 2007). Au sommet de l'Everest, elles se situent entre 29 et 40 mmHg (Boussuges et al. 2000). L'hypertension pulmonaire hypoxique au repos en altitude varie fortement suivant les individus car elle peut être totalement absente ou très fortement présente jusqu'à des valeurs supérieures à 40 mmHg (Bärtsch et Gibbs 2007).

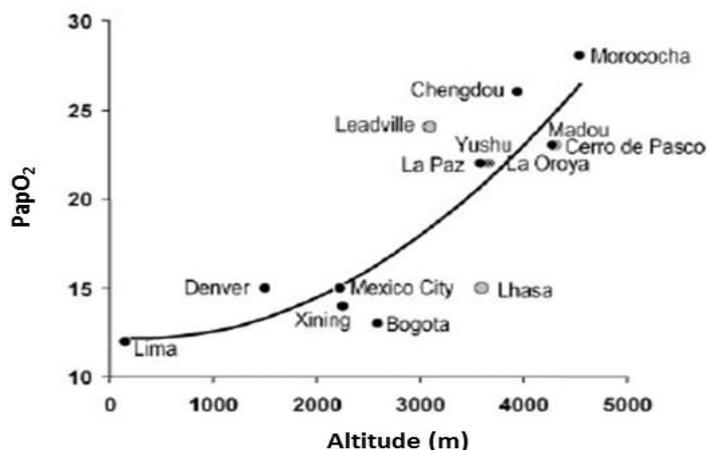


Figure 13 : Evolution de la pression artérielle pulmonaire en fonction de l'altitude (Penaloza and Arias-Stella, 2007).

L'élévation du degré d'hypoxémie pendant l'effort stimule la VPH et contribue donc à l'intensification de l'hypertension pulmonaire. A 5 000 m, les valeurs de pressions artérielles pulmonaires s'élevaient de 30 mmHg au repos à 43 mmHg à l'exercice maximal (Ghofrani et al. 2004). Plusieurs études ont montré que la prise de médicaments (Bosentan et Sildénafil qui sont utilisés comme vasodilatateur pulmonaire), permettant de limiter l'hypertension pulmonaire hypoxique, améliorait le \dot{Q}_{cmax} et la $\dot{V}O_{2max}$ en haute altitude (Faoro et al. 2007, 2009; Ghofrani et al. 2004). Des améliorations d'environ 25% du déficit de VO_{2max} engendré par l'hypoxie ont été observées dans ces études. La baisse de VES_{max} en haute altitude est donc expliquée essentiellement par une élévation de l'hypertension pulmonaire suite à la VPH qui mène à une élévation de la post-charge. Toutefois, à l'exercice maximal en moyenne altitude (2 150 m), il n'a pas été montré de diminution du \dot{Q}_{cmax} ou du VES_{max} par rapport à la plaine (Faoro et al. 2017).

Synthèse

Il est difficile de statuer sur l'évolution du \dot{Q}_c en hypoxie aiguë. Au repos, le \dot{Q}_c semble inchangé en moyenne altitude mais pourrait augmenter à cause de la tachycardie en haute altitude. Le \dot{Q}_{cmax} peut être inchangé ou diminué surtout en haute altitude. Bien que la FC_{max} diminue, la diminution du VES_{max} est le principal facteur explicatif de la baisse du \dot{Q}_{cmax} en altitude. L'amplitude des variations dépend du niveau d'altitude et des variations individuelles qui sont expliquées, en partie, par la sévérité de l'hypertension pulmonaire consécutive à la VPH.

6. Apports et utilisation de l'O₂ au niveau du muscle

Comme vu précédemment au repos, la PaO₂ et la SaO₂ diminuent proportionnellement avec l'augmentation l'altitude (figure 14).

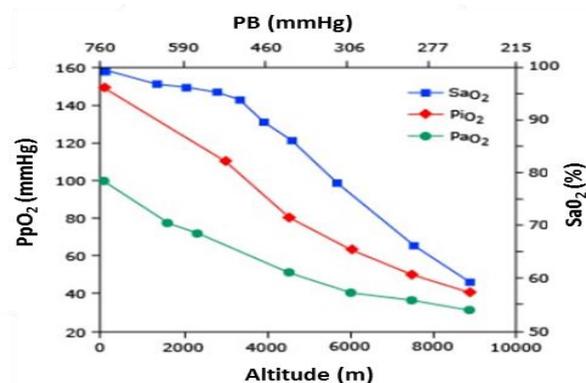


Figure 14 : Relation entre l'altitude, la pression barométrique (PB), la pression partielle en O₂ (PpO₂) et la saturation de l'hémoglobine en O₂ (SaO₂) (Geehr 2007).

Lors d'une exposition aiguë en altitude, le transport et les apports musculaires en O₂ sont relativement préservés au repos. En moyenne altitude, le \dot{Q}_c n'augmente pas car la diminution de la CaO₂ est faible. Par contre en haute altitude, le \dot{Q}_c augmente proportionnellement à la diminution de la PaO₂. A l'exercice maximal, le \dot{Q}_{cmax} n'est presque pas affecté par l'altitude modérée donc la réduction du transport de l'O₂ est principalement due à la diminution du CaO_{2max}. Par contre, avec l'augmentation de l'altitude, le \dot{Q}_{cmax} diminue et son rôle dans la diminution du transport de l'O₂ est donc accentué.

La différence artério-veineuse en O₂ (D(a-v)O₂) permet d'apprécier l'utilisation de l'O₂ délivré aux muscles actifs. Cette D(a-v)O₂ correspond à la différence de quantité en oxygène entre le sang artériel (CaO₂) et le sang veineux (CvO₂).

$$D(a-v)O_2 = CaO_2 - CvO_2$$

(Equation 12)

Lors d'une exposition aiguë à l'altitude à partir de 2 500 m, que ce soit à l'exercice sous-maximal (Bender et al. 1988) ou maximal (Mollard et al. 2007b), la D(a-v)O₂ diminue chez les sédentaires et chez les athlètes. La D(a-v)O₂ peut être influencée par plusieurs facteurs: les apports musculaires en O₂, la diffusion de l'O₂ des capillaires à la cellule musculaire et la capacité oxydative mitochondriale associée à la demande métabolique.

La diffusion de l'O₂ de l'hémoglobine vers le milieu intracellulaire puis vers les mitochondries est principalement dépendante du gradient de PO₂ entre les capillaires musculaires et les mitochondries. Il a été montré que la PO₂ mitochondriale à l'exercice maximal en plaine est proche de 0 mmHg (Richardson et al. 1995), le gradient de pression dépend donc uniquement de la PO₂ dans les capillaires musculaires. A l'exercice en altitude, la pression veineuse en O₂ (PvO₂) est identique par rapport à la plaine voir même diminuée jusqu'à des valeurs très basses (Mollard et al. 2007b). Ces résultats suggèrent des niveaux similaires de diffusion de l'O₂ dans les muscles entre la plaine et l'altitude malgré un gradient de PO₂ entre les capillaires musculaires et les mitochondries plus faible en altitude. Calbet et al. (2009, 2003a) ont émis l'hypothèse de l'existence d'une réserve fonctionnelle de la capacité de diffusion de l'O₂ dans les muscles qui serait mobilisée à l'exercice en altitude. De ce fait, les capacités de diffusion n'ont qu'un rôle secondaire dans la limitation de la $\dot{V}O_{2max}$ tandis que le transport d'O₂ a un rôle principal (Calbet et al. 2009; Lundby et al. 2006).

L'équation suivante de la consommation d'O₂ illustre bien ce phénomène :

$$\dot{V}O_2 = D_{TO_2} \times (P_{CO_2} - P_{TO_2}) \quad \text{(Equation 13)}$$

D_{TO_2} : Diffusion tissulaire (en ml.min⁻¹.mmHg⁻¹) ; P_{CO_2} : pression capillaire en O₂ (mmHg) ;
 P_{TO_2} : pression tissulaire en O₂ (mmHg)

D'autre part, la réduction de la capacité oxydative du muscle en hypoxie ne semble que peu plausible car il a été montré que l'inhalation d'un air hyperoxique lors d'un exercice en altitude restaure les valeurs de $\dot{V}O_{2max}$ du niveau de la mer (Bender et al. 1988; Cerretelli 1976; Lundby et al. 2006; Saltin et al. 1968; Sutton et al. 1988). Il semble donc que si l'activité oxydative mitochondriale est altérée, il ne s'agit pas d'un paramètre déterminant pour la diminution de l'utilisation de l'O₂.

⚡ Synthèse

A l'exercice en hypoxie aiguë, les apports musculaires en O₂ sont diminués à cause de la diminution du CaO₂ pour des altitudes modérées. Lorsque l'altitude augmente, la diminution du \dot{Q}_{cmax} s'ajoute à la diminution de CaO₂ intensifiant la baisse des apports en O₂.

L'extraction de l'O₂ est diminuée à l'exercice maximal en hypoxie aiguë. Cette diminution est liée à la baisse des apports musculaires en O₂ alors que la réserve diffusionnelle est mobilisée et qu'une altération des capacités oxydatives mitochondriales est peu probable.

Depuis plusieurs années maintenant, les expérimentations se sont multipliées afin d'étudier l'impact de l'altitude sur la valeur de $\dot{V}O_2max$. La littérature montre que l'exposition d'un sujet à l'altitude aiguë provoque une baisse de la valeur de sa $\dot{V}O_2max$ (Chapman et al. 1999; Ferretti et al. 1997; Gore et al. 1996; Mollard et al. 2007; Squires et Buskirk 1982). Plus l'altitude augmente et plus la diminution de $\dot{V}O_2max$ est importante et à partir de 3 000 m, la diminution est accentuée. Une régression des données provenant de 11 études différentes sur des athlètes entraînés en endurance a montré une réduction linéaire de $\dot{V}O_2max$ avec la montée en altitude à partir du niveau de la mer (figure 15) (Wehrlin et Hallén 2006). Les athlètes semblent présenter une altération de leur $\dot{V}O_2max$ presque linéaire dès 500 m au-dessus du niveau de la mer (Chapman et al. 2010). Chez des sujets sédentaires, la diminution de $\dot{V}O_2max$ a été mise en évidence à partir de 1 000 m (Mollard et al. 2007a, 2007b). De plus, il a été montré que pour une même altitude, la diminution de $\dot{V}O_2max$ est plus importante chez des sujets entraînés par rapport à des sujets sédentaires (Koistinen et al. 1995; Mollard et al. 2007a).

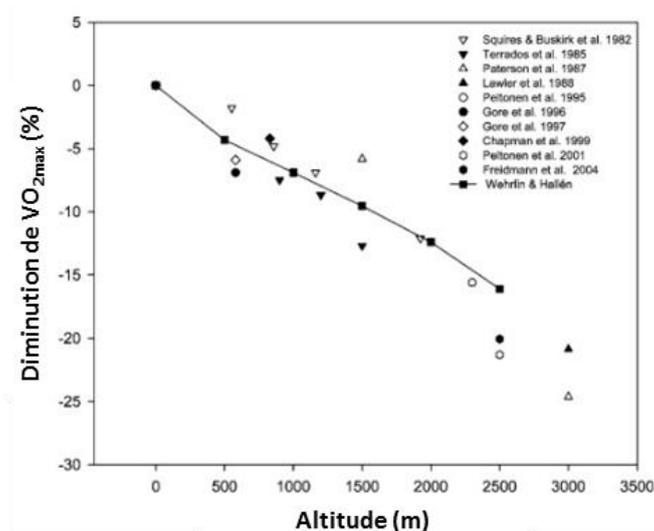


Figure 15 : Pourcentage de diminution des valeurs de $\dot{V}O_{2max}$ à différentes altitudes par rapport au niveau de la mer. Les sujets de ces 11 études sont tous des hommes non acclimatés entraînés en endurance (moyenne de $\dot{V}O_{2max}$ > 60 ml.kg⁻¹.min⁻¹) (Wehrlin et Hallén 2006)

La diminution de la $\dot{V}O_{2max}$ est accompagnée d'une baisse de la puissance maximale (P_{max}) développée. A 2 500 m, la P_{max} est diminuée de 5 à 18% (Amann et al. 2007; Peltonen et al. 1999, 1997, 1995). La diminution de P_{max} n'est pas proportionnelle à la perte de $\dot{V}O_{2max}$ comme le montre la figure 16. Plusieurs études ont montré que le manque d'oxygène chronique (Caquelard et al. 2000) et aigu (Dousset et al. 2001; Bendahan et al. 1998) réduit le déplacement vers la gauche de la densité spectrale de puissance de l'électromyogramme pendant les contractions statiques soutenues de 60-80% de la contraction volontaire maximale. Cette diminution de la densité spectrale de puissance correspond à un recrutement préférentiel d'unités motrices rapides (Badier et al. 1994), ce qui peut constituer un processus adaptatif pour limiter le recrutement d'unités motrices lentes fortement dépendantes de l'oxygène (Dousset et al. 2001). Le recrutement préférentiel d'unités motrices rapides pourrait constituer une réponse musculaire adaptative à un apport d'oxygène réduit et peut expliquer la diminution moindre de P_{max} par rapport à la diminution de $\dot{V}O_{2max}$ dans l'hypoxie. Des investigations complémentaires sont nécessaires pour confirmer cette hypothèse.

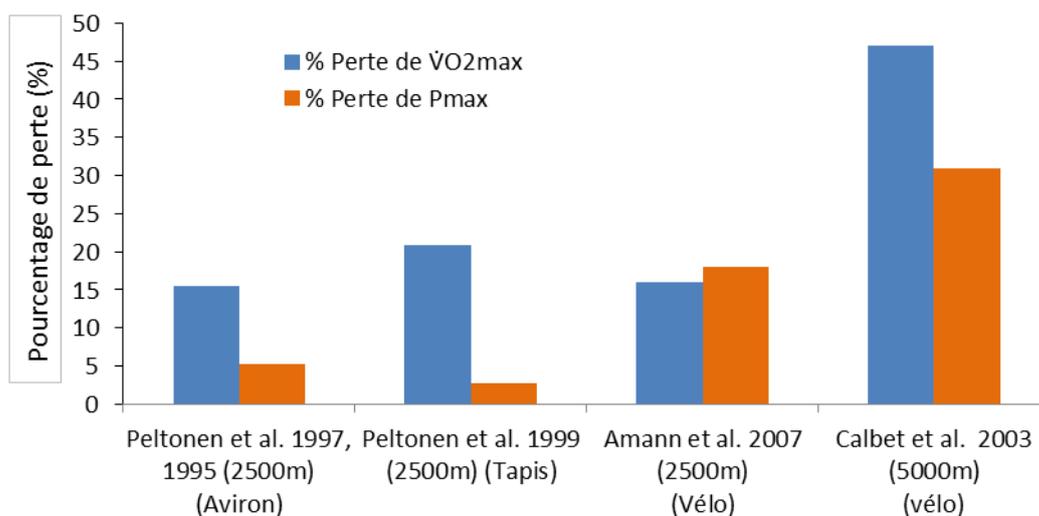


Figure 16 : % de perte de VO2max et de Pmax d'après plusieurs études

La baisse de la $\dot{V}O_2\text{max}$ et de la Pmax entraînent une baisse des performances en endurance comme l'indique la figure 17 qui montre les records de temps en marathon chez les hommes et les femmes en fonction de l'altitude (d'après Péronnet et al. 1991).

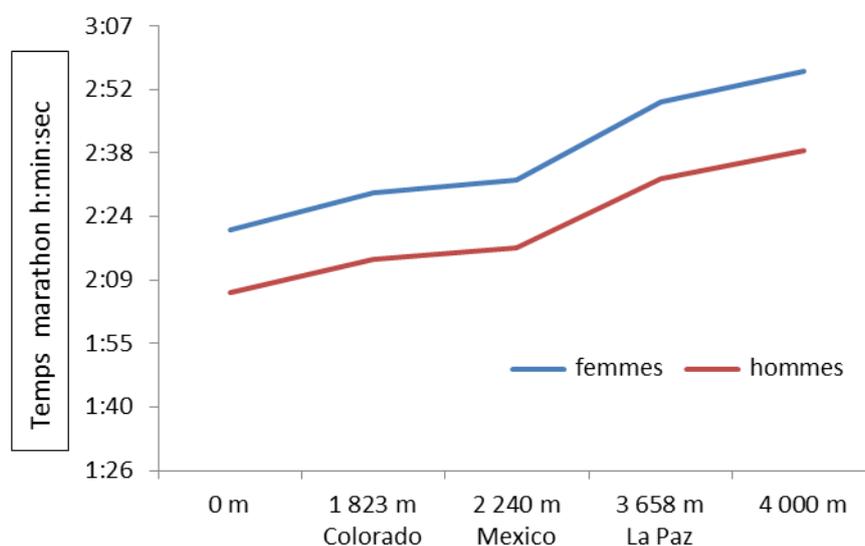


Figure 17 : Record de temps au marathon chez les hommes et les femmes avec l'augmentation de l'altitude (d'après Péronnet et al. 1991)

Tableau 2 : Récapitulatif des principales adaptations physiologiques à l'exercice maximal en altitude.

	HYPOXIE AIGUË	
	<i>moyenne altitude</i>	<i>haute altitude</i>
$\dot{V}O_{2max}$	↘	↘
\dot{V}_{Emax}	↗ → sédentaires ? athlètes ?	↘ (Athlètes +++)
$D(A-a)O_2$	↗	↗
Masse des globules rouges	→	→
SaO_{2max}	↘	↘
$\dot{Q}c_{max}$	→ ou ↘	→ ou ↘
FC_{max}	↘	↘
VES_{max}	→ ou ↘	→ ou ↘
Apports musculaires en O_2	↘	↘
$D(a-v)O_2$	↘	↘

7. Utilisation des substrats énergétiques en altitude

Comme nous l'avons décrit précédemment, plus l'altitude augmente et plus la disponibilité en O₂ pour les muscles est diminuée. Ceci peut avoir des conséquences sur les sollicitations métaboliques en altitude. Il y a près de 30 ans, Hochachka a proposé qu'une plus grande dépendance à l'égard des glucides soit bénéfique en altitude, car cette catégorie de nutriment offre un rendement énergétique supérieur pour une même quantité d'O₂ consommée à celui des acides gras (Hochachka 1985). Théoriquement, l'économie d'O₂ lors de l'oxydation des glucides par rapport celles des lipides représente 15-18% d'ATP de plus par mole d'O₂ utilisée (Brand 2005). *In vivo*, la différence peut être encore plus élevée, jusqu'à 30% d'ATP par mole d'O₂ utilisée (Daut et Elzinga 1989). Un certain nombre d'études sur les effets de l'exposition aiguë et/ou chronique à l'hypoxie sur l'utilisation des substrats énergétiques chez l'Homme ont signalé en altitude (4 500m) une augmentation de l'utilisation du glucose sanguin au repos et pendant l'exercice (Brooks et al. 1991; Cooper et al. 1986; Roberts et al. 1996b) et une diminution de la consommation d'acides gras dans les muscles pendant l'exercice en altitude (Roberts et al. 1996a). Cependant, ces études ont comparé les données des sujets exerçant des activités physiques en plaine et en altitude aux mêmes intensités absolues plutôt qu'aux mêmes intensités relatives (en fonction de leur $\dot{V}O_2\text{max}$) dans chaque environnement. Une réduction de 20 à 35% de la $\dot{V}O_2\text{max}$ est habituellement mesurée chez les sujets exposés à une hypoxie de haute altitude (Hochachka et Somero 2002). En conséquence, les individus pratiquant une activité physique en altitude aux mêmes intensités de travail absolues qu'en plaine s'exercent à des intensités plus proches de leur $\dot{V}O_2\text{max}$ de plaine (% $\dot{V}O_2\text{max}$ plus élevé). L'utilisation accrue des glucides dans ces études pourrait donc s'expliquer par les différences d'intensité d'exercice plutôt que par un changement métabolique de l'utilisation des substrats énergétiques en altitude. En effet, dans les études où les comparaisons ont été effectuées à la même intensité relative d'exercice, aucun changement dans les taux d'oxydation des glucides et des lipides n'a été signalé suite à une exposition aiguë à une hypoxie hypobarique (Lundby et Van Hall 2002; Bouissou et al. 1987).

Lundby et Van Hall (2002) ont comparé un exercice d'endurance de 60 min à 50% de $VO_2\text{max}$ (mesuré en plaine) en plaine et un exercice de 60 min à 50 % de $VO_2\text{max}$ (mesuré en altitude) à une altitude simulé de 4 300 m. Les concentrations de glucose, de lactate, acide gras non estérifié et de glycérol ont été mesuré individuellement à l'aide de kit spécifique. Il a été montré aucune différence entre un exercice réalisé en plaine et un exercice réalisé à 4 300 m à même intensité relative sur l'utilisation des substrats énergétique. Bouissou et al. (1987)

ont comparé un exercice sur ergocycle d'une heure à 60 % de VO_2 max (mesuré en plaine et en altitude simulé) en plaine et en altitude simulé de 3 000 m. Les auteurs ont mesuré les taux de lactates et les concentrations des catécholamines dans le sang entre avant, après 30 min et 60 min d'exercice en plaine et en hypoxie. Il a été montré que les concentrations de lactate et de catécholamines ont été similaires entre un exercice en plaine et en hypoxie. Les auteurs suggèrent que l'utilisation des substrats est similaire entre la plaine et l'hypoxie. Ces études ont utilisé des techniques de simulation de l'altitude et ont donc été réalisées dans des conditions d'hypoxie normobarique et non pas en hypoxie hypobarique, condition réelle de pratique en altitude. A ce jour, il n'y a aucun consensus entre les chercheurs sur l'utilisation des substrats énergétiques en altitude comparé à la plaine. La majorité des études cherchant à évaluer l'impact de l'altitude sur le métabolisme est basée sur une analyse biochimique ciblée d'un petit nombre de métabolites, visant à tester des hypothèses sur les modulations de voies métaboliques spécifiques. En réalité, de nombreux métabolites sont impliqués dans une multitude de voies métaboliques dont l'interdépendance permet d'assurer une homéostasie métabolique. Capturer une vue d'ensemble des molécules et de la façon dont ces molécules peuvent varier permet de révéler des marqueurs des adaptations des voies métaboliques mises en jeu en réponse à deux stress physiologiques, l'exercice et l'altitude. En ce sens, la métabolomique est une méthode particulièrement adaptée pour explorer les conséquences de ces adaptations.

III. La métabolomique

1. Définitions de la métabolomique, métabonomique et du métabolome

Au début des années 1990, les avancées technologiques ont permis le séquençage complet des génomes de plusieurs organismes dont notamment le génome humain. Depuis un des enjeux scientifiques a été de relier le génome aux fonctions physiologiques de l'organisme grâce à différentes techniques d'analyses : la transcriptomique qui étudie les ARN messagers, la protéomique qui étudie les protéines et la métabolomique qui étudie le métabolome (figure 18). Le terme métabolome est apparu pour la première fois en 1998 dans une publication d'Oliver et al. (1998) et est défini comme l'ensemble des métabolites contenu dans un système biologique donné : organisme, cellule ou liquide biologique (plasma, sérum, salive et urine). Les métabolites sont les molécules impliquées dans les processus métaboliques. Il peut s'agir de substrats, produits ou cofacteurs de réactions enzymatiques ou chimiques (Dettmer et Hammock 2004). Elles sont de faibles masses moléculaires (<1500Da) telles que les acides organiques, les oses, les acides gras, les acides aminés mais aussi certains petits peptides, vitamines, stéroïdes, xénobiotiques et autres molécules exogènes. « Le métabolome représente l'ultime réponse d'un organisme à une altération génétique, une pathologie, une exposition à un toxique ou à tout autre facteur susceptible de perturber son fonctionnement » (Ezan 2008). Comme le protéome, le métabolome est dépendant du contexte, c'est-à-dire que les taux de protéines ou de métabolites sont modifiés en fonction de l'état physiologique, développemental, ou pathologique d'une cellule, d'un tissu, d'un organe ou d'un organisme (Ezan 2008).

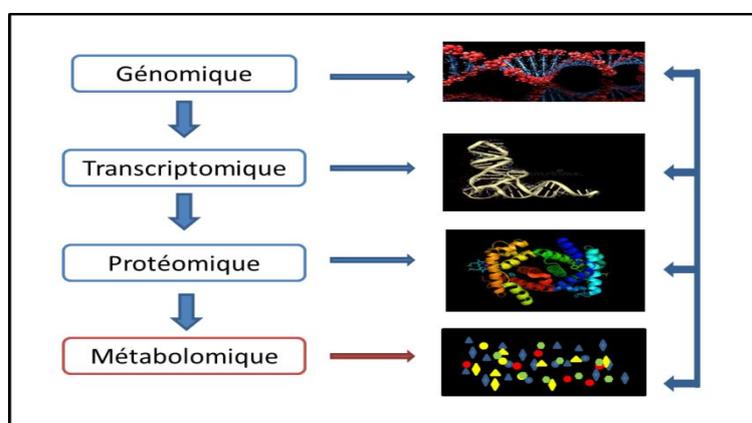


Figure 18 : Place de la métabolomique dans les techniques en omiques

La métabonomique a été formellement définie en 1999 par Jeremy Nicholson et ses collègues comme « la mesure quantitative de la réponse métabolique multiparamétrique des systèmes vivants aux stimuli physio-pathologiques ou à la modification génétique ». Un peu plus tard, en 2001, le terme « métabolomique » a été introduit par Oliver Fiehn et est défini un peu différemment comme « une analyse complète et quantitative de tous les métabolites » dans un système. Bien qu'il subsiste des différences de concept, il existe maintenant un grand chevauchement entre les deux domaines et leurs méthodologies, et les deux termes sont souvent utilisés de manière interchangeable par les scientifiques et les organisations scientifiques (Lindon, Nicholson, et Holmes 2011). Dans les deux cas, la méthodologie consiste en une analyse multiparamétrique d'échantillons d'origine biologique dont les résultats seront exploités par des méthodes statistiques multivariées de classification.

2. Les différents types d'approches

La métabolomique vise donc l'identification, la quantification et l'analyse comparative des métabolites. Différents types d'approches peuvent être utilisées en métabolomique en fonction du type d'étude mis en place.

L'analyse métabolomique non ciblée ou globale étudie l'ensemble des modifications du métabolome, sans connaître, a priori, quels sont les métabolites dont les quantités sont modulées et qui seront identifiés à la suite de la classification statistique. L'analyse globale a plusieurs résultats : identifier et quantifier les métabolites présents afin d'obtenir et de comparer des « empreintes métaboliques » dans un échantillon biologique prélevé dans des conditions définies préalablement. Le but est d'obtenir une vue d'ensemble du métabolome d'un organisme afin de repérer les voies métaboliques et /ou construire un modèle prédictif où pourront être classés des échantillons inconnus. La méthode globale permet de comparer des empreintes métaboliques dans des échantillons où les concentrations de métabolites sont modifiées par l'interférence d'un facteur (comme l'altitude ou l'exercice) et de comprendre la signification biologique de ces changements. C'est cette méthode qui sera utilisée dans ce travail afin d'avoir une vue d'ensemble des voies métaboliques modifiées par l'exercice en altitude.

L'analyse métabolomique ciblée cherche à mesurer spécifiquement la modification de concentration de métabolites spécifiques. Les techniques analytiques restent des méthodes multiparamétriques qui détecteront une famille biochimique ou les intermédiaires d'une

voie métabolique particulière. Le but est de mieux comprendre la fonction ou la régulation de cette voie métabolique et/ou ses liens avec d'autres voies.

3. Méthodes d'acquisition des données

La spectrométrie par résonance magnétique nucléaire (RMN) et la spectrométrie de masse (SM) sont les principales techniques analytiques utilisées dans les études métabolomiques pour leur capacité à produire des ensembles de données multiparamétriques complexes à partir d'échantillons d'origine biologique (Nicholson et al. 2002). La spectrométrie RMN est l'une des premières méthodes d'analyse à avoir été utilisée pour l'étude du métabolome et bénéficie d'une trentaine d'années de recul en comptant les années d'applications de la RMN aux échantillons biologiques (Nicholson et Wilson 1989). La RMN a l'avantage d'être non destructrice, rapide, simple à mettre en œuvre et robuste. De plus, elle permet de produire des spectres riches en informations structurales directes avec une préparation minimale des échantillons. La SM requiert une séparation préalable des analytes de la matrice par des extractions chimiques puis une autre séparation des analytes entre eux soit par chromatographie en phase gazeuse (GC), soit par chromatographie liquide (LC) (Beckonert et al. 2007). Les méthodes SM ont l'avantage d'avoir une sensibilité élevée avec des limites de détection de l'ordre du picomolaire, tandis que les limites de détection de la spectrométrie RMN sont de l'ordre de la dizaine de micromolaire (Lindon et Nicholson 2008). Du fait des nombreuses phases de préparation des échantillons et des méthodes de chromatographies préalables nécessaires, la SM est une technique analytique beaucoup moins robuste et reproductible. De stricts contrôles de qualité sont nécessaires pour obtenir des quantifications fiables.

Ainsi, le choix de la technique analytique appropriée dépend de la question biologique posée ou du but de l'étude. Pour les études avec une connaissance préalable de la classe spécifique de métabolites qui doivent être quantifiés, la SM peut être un choix judicieux pour la quantification en raison de sa grande sensibilité. Pour des études ayant pour objectif de mesurer de multiples classes de métabolites et/ou de mettre en avant des profils métaboliques, la spectrométrie RMN du proton est mieux appropriée en raison de sa capacité à détecter simultanément un grand nombre de métabolites n'ayant pas de caractéristiques physico-chimiques communes sauf celles de posséder des noyaux d'hydrogène (protons) dans leur structure chimique. En outre, la particularité de la RMN d'être non destructive des échantillons biologiques donne la possibilité d'utiliser le même échantillon pour d'autres

analyses, si nécessaire, par d'autres techniques à des fins de validation comparée ou de quantification.

Pour mener une étude métabolomique sur l'effet de l'exercice en altitude, il est nécessaire d'utiliser un outil polyvalent qui permet de détecter de multiples classes de métabolites. La spectrométrie par RMN du proton (ou ^1H RMN) est donc le choix le plus approprié afin de mettre en avant des profils métaboliques en fonction de l'environnement. Dans la suite du document, nous ne développerons que les méthodes utilisées en spectrométrie ^1H RMN.

4. Déroulement d'une analyse métabolomique par ^1H RMN

La métabolomique est une méthode mettant en jeu une multitude de disciplines : la chimie analytique, le traitement du signal et l'analyse statistique (figure 19). La première étape de l'analyse métabolomique est la mise en place d'un protocole de collecte des échantillons qui permettra d'obtenir des données biologiquement interprétables. Ensuite, les échantillons sont préparés avant leurs insertions dans les machines analytiques. Les signaux obtenus vont subir plusieurs corrections afin d'acquérir des spectres comparables qui seront mis en commun dans une matrice de données :

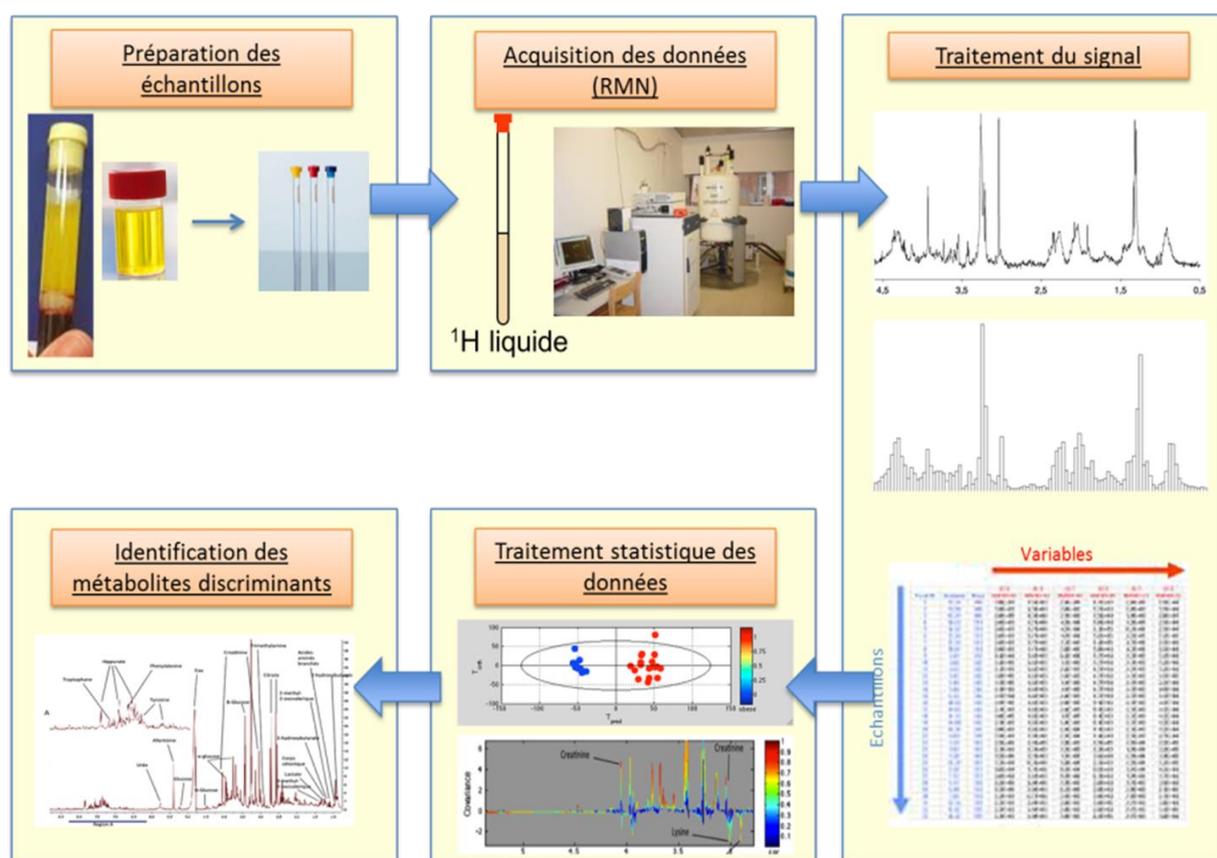


Figure 19 : Déroulement d'une analyse métabolomique par ^1H RMN.

a) Protocole expérimental d'une étude de métabolomique

La première étape d'une étude métabolomique est la mise en place de critères d'inclusion des sujets très stricts. En effet, en métabolomique certains facteurs analytiques ou biologiques confondants peuvent masquer le phénomène biologique étudié.

Les facteurs biologiques confondants ont été décrits dans la littérature, il peut s'agir de l'âge (Park et al. 2006), du sexe (Hodson et al. 2007), des effets chrono-biologiques (Plumb et al. 2003; Williams et al. 2005), de l'alimentation (Dumas et al. 2006) ou du style de vie (exemple : vivre en altitude). Ces facteurs peuvent être contrôlés en ayant des critères d'inclusion des sujets stricts comme, par exemple, l'utilisation de catégories d'âge, ou encore l'homogénéité entre le nombre d'hommes et de femmes. Les effets chrono-biologiques peuvent être contrôlés en récoltant les échantillons à la même heure de la journée. Le plus compliqué semble de contrôler l'alimentation des sujets, mais il est possible de normaliser les régimes alimentaires avant les études pour limiter ce biais méthodologique. Le cadre de vie peut aussi être contrôlé, en recrutant, par exemple, des sujets ne vivant qu'en plaine ou qu'en altitude. La prise en compte de ces paramètres est primordiale, mais il ne faut pas oublier que même en contrôlant, autant que faire se peut, ces facteurs, ils peuvent, quand même, engendrer une variabilité métabolique inter et intra individuelle.

Il faut également remarquer que certains liquides biologiques pourraient être plus sujets à une importante variabilité inter ou intra-individuelle que d'autres. Ainsi, Lenz et al. (2003) ont observé une variabilité interindividuelle importante du métabolome urinaire mais pas du métabolome sanguin.

b) Principe de la RMN ¹H et acquisition des données

Le principe de la ¹H RMN consiste tout d'abord à utiliser un champ magnétique B₀ pour orienter les spins nucléaires des atomes. Ensuite, exciter ces spins par une onde radio à la fréquence de résonance, ce qui perturbe la répartition des spins sur les niveaux d'énergie. Enfin, après l'excitation, les spins reviennent à leur état initial (relaxation) (Figure 20).

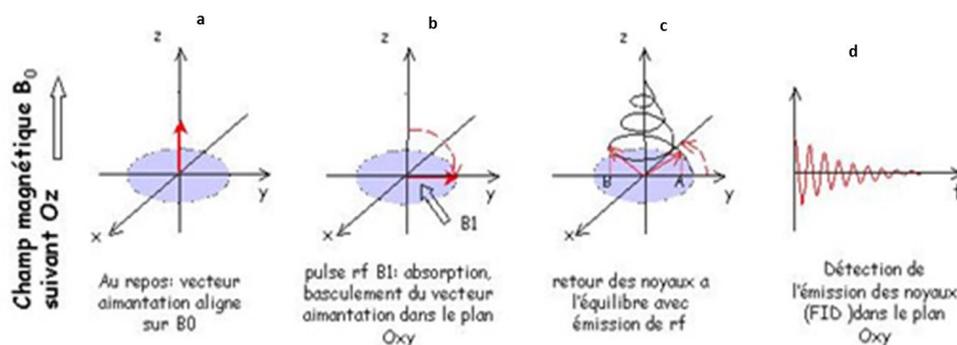


Figure 20 : L'expérience ^1H RMN (d'après Baudouin 2017)

Les données brutes sont acquises sous forme de free induction decay (FID), c'est à dire la fonction sinusoïdale amortie intensité du signal en fonction du temps, comme illustré par la figure 21. Une transformée de Fourier est appliquée aux FIDs pour obtenir un signal en fonction de la fréquence. Il s'agit du spectre.

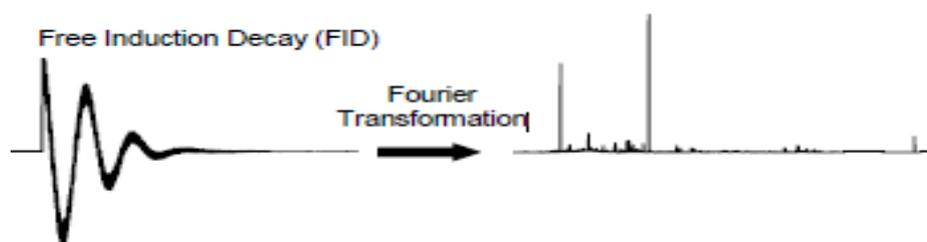


Figure 21 : Passage d'un signal FID à un spectre en appliquant une transformée de Fourier

Chaque signal RMN possède des informations qui sont propres à son noyau et à son environnement magnétique et chimique. Ces informations sont caractérisées par trois paramètres que sont le déplacement chimique, la constante de couplage et l'intensité du signal (Maes 2009).

Tous les protons ne résonnent pas à la même fréquence du fait de leur environnement chimique. Les électrons participant aux liaisons chimiques qui les entourent créent un champ magnétique supplémentaire qui provoque un déplacement de la fréquence de résonance. Ce déplacement dépend de l'électronégativité des atomes voisins. Une échelle relative appelée échelle de déplacement chimique (en partie par million ou ppm) est utilisée afin de pouvoir comparer les fréquences de résonance d'un même proton placé dans des champs magnétiques différents.

L'intensité des pics est proportionnelle au nombre de noyaux, ce qui signifie dans les spectres issus d'une transformée de Fourier, que la surface sous la résonance (complète, en tenant compte du couplage) est proportionnelle à la quantité du proton observé donc à la concentration dans l'échantillon de la molécule à laquelle il appartient. Ainsi, si dans cet échantillon est placé un composé de concentration connue, ce facteur de proportionnalité peut être calculé et appliqué à toutes les autres molécules présentes dans l'échantillon. Ce type d'étalonnage n'est pas ou peu facilement réalisable dans le cas d'échantillons biologiques qui sont des mélanges complexes. Afin de minimiser les erreurs possibles, il est le plus souvent plus fiable de travailler en concentrations relatives et d'utiliser des méthodes de normalisation dont nous parlerons dans le chapitre des matériels et méthodes.

Enfin le phénomène de couplage a pour origine l'environnement magnétique du proton considéré, c'est à dire les noyaux de la même espèce à proximité. Le couplage a pour conséquence une division de chaque résonance en plusieurs raies en fonction du nombre de noyaux voisins, c'est-à-dire les noyaux couplés scalairement au noyau observé. Cet éclatement du signal donne donc une information sur le nombre de proton porté par le carbone voisin du carbone portant le proton observé.

c) Traitement des données

Après avoir enregistré les FID, nous procédons à différents prétraitements qui sont : le phasage, la correction de la ligne de base, la calibration de l'échelle de déplacement chimique grâce à un métabolite de référence. Finalement les spectres sont découpés en petites régions de 0.001 ppm appelés « buckets » dont les valeurs de leur surface génèrent la matrice X où chaque ligne correspond à un spectre d'un individu et chaque colonne est un bucket ou variable nommée par la valeur moyenne de déplacement chimique du bucket. Cette matrice subit une normalisation des spectres et une normalisation des variables, cette étape tient compte de la concentration globale de tous les échantillons, le but est par exemple la suppression de l'effet de dilution. Ces différentes étapes seront développées dans la partie « Matériels et méthodes ».

d) Analyses statistiques

Les techniques statistiques multivariées, dont l'analyse en composantes principales (ACP) non supervisée et les analyses PLS et OPLS supervisées (PLS = projection to latent structure et OPLS = orthogonal projection to latent structure), sont classiques en métabolomique pour

analyser et classer les ensembles de données complexes en modèles à deux ou plusieurs dimensions afin de fournir une représentation visuelle des données (Nicholson et al. 2002).

L'ACP est la plus simple et la plus connue des techniques d'analyse de données multivariées. C'est une méthode de réduction des variables. Elle a donc pour objectif de décrire un ensemble de données (n individus, p variables) par de nouvelles variables en nombre restreint. C'est une méthode factorielle car la réduction des variables ne se fait pas par une simple sélection de certaines d'entre elles mais par la construction de nouvelles variables synthétiques obtenues à partir des variables initiales par combinaison linéaire. L'ACP organise l'ensemble de données dans des vecteurs non corrélés appelés composantes principales (CP) en fonction de la grandeur de la variance des données. La première composante principale (CP1) a une grandeur de variance supérieure à celle de la deuxième composante principale (CP2) et ainsi de suite. Dans un modèle bidimensionnel, par exemple, les CP1 et CP2 sont tracées orthogonalement l'une par rapport à l'autre en fonction du calcul des variables latentes sous la forme d'un « score-plot » (échantillons) et d'un « loading-plot » (pondération des variables réelles). Cette méthode de classification est dite non supervisée car elle ne tient pas compte de l'appartenance des échantillons à des groupes préexistants (prise en compte uniquement des variables X mais pas des facteurs définissant les groupes (décrits dans une matrice Y) et, elle peut aboutir au regroupement de certains spectres en « nuages ». Dans certains cas, ces nuages peuvent correspondre à des groupes d'échantillons présentant des caractéristiques communes (témoins/malades ou lots expérimentaux d'échantillons). Ainsi, des biais expérimentaux peuvent être détectés. L'ACP est aussi utilisée pour détecter les spectres aberrants (« out-liers ») ou, au contraire, pour décrire l'homogénéité biologique de l'ensemble des spectres obtenus (Lindon et Nicholson 2008).

Les modèles PLS et OPLS sont des analyses supervisées appliquées aux ensembles de données spectrales pour discriminer les classes en fonction d'un groupe d'appartenance (par exemple, le facteur altitude) et pour montrer les variables discriminantes du modèle (Nicholson et al. 2002).

La régression PLS fournit un modèle mathématique qui permet d'expliquer une ou plusieurs variables Y en fonction d'une matrice de variables expérimentales X. Le fonctionnement des techniques PLS ne sera pas décrit ici en détails. Ce type de modélisation n'utilise pas directement les variables explicatives, mais calcule d'abord les axes PLS sur lesquels sera ensuite réalisée la régression. Ces axes sont des combinaisons linéaires des variables initiales

calculées de manière à décrire les plus grandes variations présentes dans le jeu de données et à maximiser la covariance entre les entrées (X) et la sortie (le ou les Y) du modèle. Ces axes sont tous orthogonaux entre eux. En régression PLS, toutes les variables importantes sont conservées et les variables sans importance sont soit exclues, soit participent au modèle, mais avec un faible poids. Les observations Y sont ainsi décrites en fonction des variables X.

L'OPLS est une récente modification de la PLS. Elle consiste à diviser la variation systématique de X en deux parties, dont la première est linéairement reliée à Y et la seconde est indépendante (orthogonale) à Y. Ce fractionnement des données de la matrice des X facilite l'interprétation et l'application du modèle à de nouveaux échantillons. Le modèle OPLS est composé de 2 sources de variation modélisées, l'une prédictive de Y et l'autre indépendante de Y, chacune correspondant à une composante. Seule la variation reliée à Y est utilisée pour modéliser Y. Les variations interclasse et intra-classe sont séparées sur les deux composantes en OPLS alors qu'elles ne l'étaient pas en PLS, ce qui facilite beaucoup l'interprétation du modèle OPLS.

La présentation des résultats de l'ACP de la PLS ou de l'OPLS sont similaires en termes de « score plot » ou carte factorielle du poids des individus, c'est-à-dire la projection des échantillons dans le nouveau repère généré par la méthode statistique multivariée, et de « loading plot » ou carte factorielle du poids des variables qui représente la projection des variables initiales sur les nouvelles composantes et met en évidence les principales variables responsables du clustering précédemment observé (figure 22).

La qualité des modèles sont évaluée en fonction du coefficient de corrélation (R^2Y) et du coefficient prédictif (Q^2Y): $R^2Y = 1$ indique une reproductibilité parfaite des données par le modèle, tandis que $Q^2Y = 1$ indique une predictabilité parfaite.

Un modèle peut être interprété en inspectant visuellement le « score plot » afin de déterminer si des échantillons sont regroupés en nuages ou bien si certains sont en dehors de l'intervalle de confiance des 95% d'Hotelling (désigné par une ellipse), et ainsi d'élucider des valeurs aberrantes potentielles et d'observer des motifs de regroupement. Le cas échéant, cela permet de montrer l'homogénéité métabolique. Une des limitations de la cartographie des données chimiométriques est que la variation inter individuelle a tendance à être élevée dans les ensembles de données spectrales de RMN 1H obtenues à partir de liquides biologiques (Walsh et al. 2006) et, dans certains cas, elle peut dépasser l'effet du facteur étudié (ex : l'altitude). Ainsi, il existe des paramètres externes à contrôler, dans la mesure du possible, comme le

recrutement d'un échantillon de population homogène, la mise en place d'un régime normalisé, l'apport de liquides et la collecte de bioliquides au même moment de la journée dans le but de réduire cette variation.

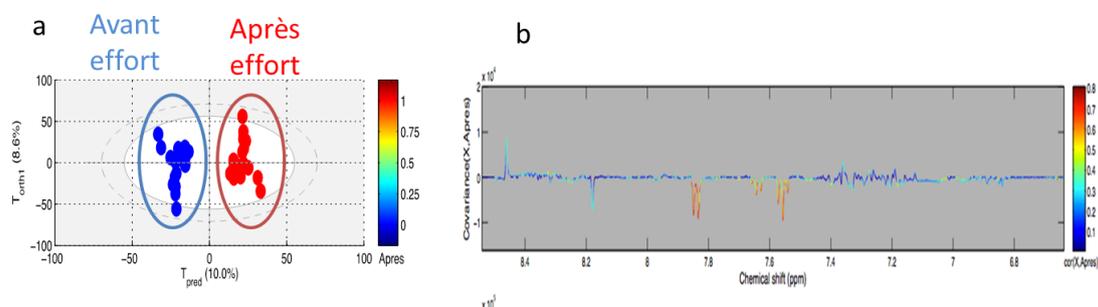


Figure 22 : Exemple d'un score plot et d'un loading plot (a) Le score plot permet de visualiser la répartition des échantillons dans un espace à 2 dimensions. Les axes du graphique, encore appelés composantes principales ou variables latentes, correspondent à des combinaisons linéaires des variables d'origine (signaux issus de la ^1H RMN). Ces combinaisons sont calculées de façon à visualiser la séparation des deux groupes sur les premières composantes. (b) Le loading plot met en évidence les principales variables responsables du clustering précédemment observé.

e) Identification des variables d'intérêt

Lorsque les variables d'intérêt sont mises en évidence par les analyses statistiques multivariées, elles ne sont identifiées que par la valeur de leur déplacement chimique. Il faut identifier les molécules dont elles sont issues pour donner une signification biologique à l'analyse statistique.

Les métabolites qui sont présents à des concentrations relativement élevées ou qui ont des signaux dans des régions spectrales relativement peu peuplées (comme l'hippurate ou la créatinine) peuvent être identifiés par simple inspection du loading plot et du spectre RMN proton en une dimension (1D). Toutefois, pour des cas plus complexes et des résonances moins intenses, l'aide de logiciels tels que Chenomix NMR Suite (Chenomix, Edmonton, Canada) peut aider à l'attribution des résonances aux métabolites présents dans les échantillons biologiques. Des vérifications peuvent aussi être effectuées grâce à des banques de données comme Human metabolome database (HMDB, Université d'Alberta, Canada) (Wishart 2007; Mercier et al. 2011). L'identification des métabolites présents à des niveaux relativement faibles, ou ayant des signaux qui se chevauchent partiellement ou totalement, sera difficile par les méthodes RMN 1D. Dans ce cas de figure, l'utilisation de méthodes spectroscopiques RMN bidimensionnelles peut être requise.

5. Applications

La métabolomique a été appliquée à de nombreux domaines avec succès, comme la biologie végétale (Cabasson et al. 2008), le phénotypage d'organismes génétiquement modifiés (Baker et al. 2006), la microbiologie (Reaves et Rabinowitz 2011), la toxicologie (Robertson et al. 2011), la médecine (Le Moyec et al. 1993), la sécurité alimentaire (Shepherd, Fraser, et Stewart 2011), la nutrition (Gibney et al. 2005) ou encore la physiologie animale (Le Moyec et al. 2014). Dans la suite de ce chapitre, nous aborderons principalement les études métabolomiques réalisées à l'exercice ou/et en altitude.

a) *Métabolomique et exercice*

La première étude métabolomique en science du sport a été réalisée en 2005 par un groupe du Massachusetts, Sabatine et al. (2005). Ensuite, une multitude de recherches se sont développées en médecine pour discriminer des sujets pathologiques et des sujets sains mais aussi pour étudier les conséquences de l'exercice physique sur les profils métaboliques des sujets pathologiques (Tableau 3).

La métabolomique a permis de mettre en avant des profils métaboliques différents entre des sujets sains et des sujets pathologiques. Il a été montré des différences d'utilisation du cycle de Krebs (cycle de l'acide citrique) entre des sujets sains et des sujets atteints d'ischémie myocardique lors d'un test de Bruce sur tapis roulant (Sabatine et al. 2005). D'autres études ont montré chez le sujet atteint de claudication (Coolen et al. 2008) ou de dysfonctionnement de l'artère coronaire (Barba et al. 2008), une augmentation de la production d'ATP par glycolyse. D'autre part, Brugnara et al. (2012) ont mis en évidence une diminution de l'utilisation de la glycolyse et de la glycogénolyse chez des patients atteints de diabète de type 1 après un exercice sur ergocycle de 30 minutes à 80% de la $\dot{V}O_2$ max. D'autres équipes ont observé qu'un entraînement de 12 semaines en aérobie pouvait améliorer la tolérance à l'insuline des sujets atteints de diabète de type 2 (Kuhl et al. 2008) et qu'un entraînement de 6 semaines en intervalle de haute intensité améliorerait la sensibilité au glucose chez la femme obèse (Kuehnbaum et al. 2014). Enfin, Rodriguez et al. (2014) n'ont pas montré d'amélioration du profil métabolique des sujets atteints de bronchopneumopathie chronique obstructive après un entraînement aérobie de 8 semaines en aérobie.

La métabolomique en science du sport a mis en avant des profils métabolomiques différents en fonction du niveau d'entraînement.

Plusieurs études ont mis en évidence des modulations métaboliques en fonction de la $\dot{V}O_2\text{max}$ des sujets. En effet, Morris et al. (2013) ont montré une meilleure utilisation des lipides, une moindre production d'acides aminés ramifiés (AAR) et une plus grande tolérance à l'insuline chez les sujets ayant les $\dot{V}O_2\text{max}$ les plus importantes. De plus, l'analyse de 460 plasmas a montré qu'un niveau moins important de $\dot{V}O_2\text{max}$ entraîne une inflammation cardiovasculaire plus importante et une diminution de l'activité des systèmes antioxydants suite à un exercice (Chorell et al. 2012). D'autre part, l'utilisation de la métabolomique a également permis de mettre en évidence l'effet de la pratique physique régulière. En effet, Kujala et al. (2013) ont montré que les concentrations en triglycérides, en lipoprotéines de faible densité et en glucose étaient plus faibles tandis que celle en lipoprotéines de haute densité était plus élevée chez les sujets les plus entraînés dans les sérum de 1037 sujets physiquement actifs âgés de 31 à 52 ans.

Les réponses métaboliques ont été classées en fonction des performances réalisées par les sujets. Santone et al. (2014) ont montré que les footballeurs peuvent être classés en fonction de la distance réalisée lors d'un test de navette Yo-Yo. Lors du marathon de Boston, les sujets les moins entraînés avaient une augmentation de l'utilisation des métabolites du cycle de l'acide citrique (Lewis et al. 2010). Chez la femme entraînée, une moindre production d'acétate a été mise en évidence après un sprint de 30 secondes sur ergocycle à vitesse maximale (Enea et al. 2010).

La métabolomique a aussi été utilisée pour observer la réponse métabolique en fonction de la fatigue. Il a été montré que le temps de repos entre des séries en « interval training » a un impact sur la réponse métabolique des sujets. Plus le temps de récupération était court et plus les concentrations de lactate, de pyruvate, d'alanine et des produits de la dégradation des acides aminés ramifiés (AAR) dans les urines étaient importantes (Pechlivanis et al. 2010). D'autre part, l'accumulation de fatigue provoquée par 3 matchs de football de 90 minutes par jour pendant 3 jours engendrait des augmentations de concentrations de méthylhistidine (marqueurs de la dégradation des fibres musculaires) et des acides aminés mis en jeu lors du catabolisme musculaire, dans la salive (Ra et al. 2014).

La métabolomique a caractérisé les réponses métaboliques des sujets après une période d'entraînement. Ainsi, Pechlivanis et al. (2013) ont observé qu'un entraînement de 8 semaines

en sprint permet d'augmenter la production d'ATP par lipolyse et de diminuer la production d'ATP par glycolyse. De plus, Yan et al. (2009) ont montré une amélioration de la lipolyse après un entraînement de 30 h par semaine pendant 2 semaines en aérobie.

D'autres travaux en métabolomique de l'exercice ont été publiés sur l'effet de supplémentation nutritionnelle et sur la récupération métabolique après l'arrêt de l'exercice. Il a été mis en avant que l'ingestion d'une boisson contenant des glucides et des acides aminés, après un exercice aérobie de 90 minutes, permet de limiter la baisse de glycémie et d'insuline ainsi que l'état catabolique post-effort (Chorell et al. 2009). De plus, la prise de boisson glucidique lors d'un effort intense sur rameur permet de limiter l'augmentation de la concentration de lactate et la baisse de la glycémie dans les plasmas après un effort (Miccheli et al. 2009). Nieman et al. (2012) ont comparé l'effet aigu de l'ingestion de bananes *versus* une consommation de glucides sur les performances des cyclistes lors d'un contre la montre de 75 km. La réponse métabolique était la même entre les deux types d'apports. D'autres études ont montré qu'un apport en antioxydants, pendant 7 jours avant un effort de 60 minutes à 55% de $\dot{V}O_2\text{max}$, provoque une augmentation de lactate, de pyruvate et d'alanine après un effort (Hodgson et al. 2013), *a contrario* un apport en antioxydants pendant 10 jours avant un effort en « interval training » de haute intensité n'a provoqué aucun changement sur les concentrations en métabolites (Knab et al. 2013).

Renforcer les recherches dans le domaine de l'entraînement et de la santé permet d'étudier les informations métaboliques spécifiques à la population, ce qui est nécessaire pour la prescription personnalisée d'exercice.

b) Métabolomique et altitude

Peu d'études de métabolomique se sont intéressées à l'effet de l'altitude sur les métabolismes. L'un des effets de l'altitude, exploré par la métabolomique, est l'OPHA, pathologie mortelle résultant d'une ascension rapide à des altitudes supérieures à 2 500 m (Hall et al. 2011; Hackett et Rennie 2002). Les skieurs, les alpinistes, les randonneurs et les touristes qui se déplacent à des altitudes de 3 000 à 8 000 m sont plus sensibles à l'OPHA en raison de leur ascension soudaine sans acclimatation préalable. Luo et al. (2012) se sont intéressés aux conséquences dans le plasma de l'OPHA suite à une ascension à 3 600 m par analyse ^1H RMN. Ils ont montré que le métabolome plasmatique des 10 sujets sans OPHA n'était pas le même que celui des 10 sujets atteints d'OPHA. En effet, les sujets atteints d'OPHA présentaient dans leur plasma, une augmentation des concentrations de valine, lysine, leucine,

isoleucine, glycérol, glycine, glutamine, acide glutamique, créatinine, citrate, et méthylhistidine et une diminution d' α - et β -glucose, de triméthylamine, et des produits du métabolisme des lipides.

Liao et al. (2016) ont utilisé la SM dans les plasmas pour observer les modulations métaboliques chez 60 sujets exposés 72h à 5 300 m d'altitude. Ils ont montré que 50 métabolites étaient modifiés par l'exposition à l'altitude. Les voies métaboliques modifiées étaient le métabolisme des lipides lié à la réponse inflammatoire (métabolisme de l'acide linoléique, métabolisme de l'acide arachidonique, métabolisme des phospholipides et métabolisme des purines), le métabolisme énergétique (glycolyse, cycle de l'acide citrique, métabolisme des acides gras et métabolisme des acides aminés), le métabolisme des acides biliaires et de l'hème.

Récemment, la métabolomique par RMN a permis d'étudier les effets de l'hypoxie hypobarique aiguë (simulation au-dessus de 5 000 m d'altitude) sur les profils métaboliques. Les profils métaboliques des modèles d'animaux ont été utilisés pour révéler des changements dans le métabolisme énergétique (Koundal et al. 2015) avec l'utilisation d'une herbe anti-anxiété (Fu Fang Jin Jing) et anti-hypoxie (Liu et al. 2013) ou avec des suppléments vitaminiques (Liu et al. 2010).

Les profils métaboliques d'hommes sains exposés 8h à 12% d'oxygène (= 4 500 m d'altitude) ont révélé des changements des niveaux de HIF-1 (Facteur stimulant la sécrétion de VEGF, facteur de croissance endothélial vasculaire) et pouvant être considéré comme un marqueur de l'hypoxie) (Tissot van Patot et al. 2009). Récemment, Lou et al. (2014) ont utilisé la SM pour étudier les changements de métabolome urinaire chez l'homme après une exposition à une hypoxie aiguë. Les métabolites de la purine (acide urique, xanthine et hypoxanthine) et de la 1-méthyladénosine étaient fortement modifiés après une rapide exposition (2h) à un environnement hypoxique (3 000 et 4 500m). De plus, cette étude a montré que les modulations métaboliques sont plus importantes à une hypoxie simulée de 4 500 m que de 3 500 m.

L'utilisation de la métabolomique pour étudier les effets de l'altitude est donc assez récente et la littérature peu abondante. S'il commence à y avoir quelques références sur les effets de l'altitude sur la santé, il y a aucune étude sur les effets de l'exercice en altitude. De plus, les quelques études réalisées au repos en altitude ont été effectuées en haute altitude (>3000 m) et/ou pour des situations d'hypoxie simulée. Or ces conditions environnementales ne sont pas

représentatives de celles rencontrées par la majorité des pratiquants en montagne, *i.e.* moyenne altitude réelle. La biochimie traditionnelle ne permet pas d'accéder à l'ensemble des réactions biochimiques complexes nécessaires à la compréhension de la biologie à l'échelle d'un organisme tel que l'homme. Dans ce contexte, l'approche métabolomique offre l'avantage de fournir un profil métabolique global d'une matrice biologique donnée, sans a priori et de manière quasi exhaustive. Cette vue d'ensemble du métabolisme d'un organisme permet d'appréhender les relations entre les voies métaboliques et d'isoler des modifications métaboliques caractéristiques d'un stimulus donnée (comme l'altitude). Au regard du nombre croissant de pratiquants en montagne et des avantages que représente la métabolomique par rapport aux méthodes biochimiques traditionnelles, il est donc intéressant d'étudier les effets de l'exercice en moyenne altitude réelle sur les métabolismes à l'aide de la ^1H RMN.

Tableau 3 : récapitulatif des différentes études métabolomiques en médecine du sport et en physiologie de l'exercice

Références	But	Echantillons	Technique d'acquisition	Sujets	Types d'exercice	Résultats
Coolen et al. 2008	Caractérisation métabolomique de la claudication	Plasmas et urines	^1H RMN	14 patients atteints de claudication et 3 sujets sains	5 min à 3 km.h ⁻¹ pente de 8%	Augmentation de la production d'ATP par glycolyse chez les patients atteints de claudication
Hodgson et al. 2013;	Etudier l'effet de l'ingestion d'extrait de thé vert pendant 7 jours sur le profil métabolique	Plasmas	SM	27 sujets masculins	60 minutes à 55% de $\dot{V}O_2\text{max}$	La boisson avec l'extrait de thé vert pendant l'exercice a entraîné une réduction des concentrations d'hydroxybutyrate ainsi que l'augmentation des concentrations de pyruvate, de lactate et d'alanine.
Miccheli et al. 2009;	Evaluation des effets d'une boisson sportive isotonique sur le statut métabolique de rameurs lors de la période de récupération après un exercice physique intense et prolongé	Urines et plasmas	^1H RMN	44 sujets masculins	Sur rameur : 20 min d'échauffement puis 1000m à intensité max et 50 min de récupération	Dans les plasmas, plus de glucose et moins de lactate chez les sujets ayant ingérés une boisson
Mukherjee et al. 2014	Caractérisation métabolomique des profils métaboliques entre des personnes entraînées et non entraînées	Urines	^1H RMN	9 sujets entraînés et 8 sujets non entraînés	Sur ergocycle = 6 min à 25 W à une cadence de 80rpm, suivi d'une course de 45 min à 60% de Pmax	Diminution du stress oxydatif chez les sujets entraînés, modification des métabolismes énergétiques entre les entraînés et les non entraînés
Nieman et al. 2012;	Comparaison de l'effet aigu de l'ingestion de bananes vs une consommation de glucides (6% de CHO) sur les performances des cyclistes	Plasmas	SM	14 cyclistes masculins	Contre la montre de 75 km	Aucune modification de métabolites n'a été observée entre l'ingestion de bananes et de glucides.

Tableau 3 : récapitulatif des différentes études métabolomiques en médecine du sport et en physiologie de l'exercice (suite)

Références	But	Echantillons	Technique d'acquisition	Sujets	Types d'exercice	Résultats
Barba et al. 2008	Caractérisation métabolomique du dysfonctionnement de l'artère coronaire	Sérum	^1H RMN	31 sujets, 22 avec maladies des artères coronaires	Protocole de Bruce test incrémental maximal	Le lactate, le glucose, ainsi que les groupements méthyle et méthylène des lipides et des acides aminés à longue chaîne (valine, leucine et isoleucine) plus élevés chez les sujets atteints de maladies coronaires
Brugnara et al. 2012	Caractérisation métabolomique du diabète de type 1	Sérum	^1H RMN	10 hommes diabétiques et 11 hommes sains	30 min à 80% de la $\dot{V}\text{O}_2\text{max}$ s un ergocycle	Diminution de la glycolyse et de la glycogénolyse chez les patients diabétiques de type 1
Chorell et al. 2009;	Caractérisation métabolomique de l'ingestion d'une boisson glucidique sur la récupération après effort	Sérum	SM	24 sujets masculins	test de 90 min = neuf séries identiques de 10 min sans repos : 40% (2 min), 60% (6 min) et à 85% (2 min) de $\dot{V}\text{O}_2\text{ pic}$	Insuline et glucose plus élevés chez les sujets ayant ingérés une boisson avec une supplémentation et diminution des acides gras libres pendant la phase de récupération
Chorell et al. 2012	Caractérisation métabolomique en fonction de l'état de santé	Plasmas	SM	460 échantillons de plasma de 27 individus	Pas d'exercice	Un niveau moins important de $\dot{V}\text{O}_2\text{max}$ entraîne une inflammation cardiovasculaire plus importante et une diminution de l'activité des systèmes antioxydants
Enea et al. 2010	Caractérisation métabolomique des sujets entraînés vs les sujets non entraînés	Urines	^1H RMN	10 femmes saines et 12 femmes entraînées en endurance	Un sprint de 30 secondes sur ergocycle à vitesse maximale contre une résistance calculée individuellement	Acétate a augmenté de manière moins importante chez les sujets entraînés.

Tableau 3 : récapitulatif des différentes études métabolomiques en médecine du sport et en physiologie de l'exercice (suite)

Références	But	Echantillons	Technique d'acquisition	Sujets	Types d'exercice	Résultats
Knab et al. 2013	Etudier l'effet de l'ingestion pendant 10 jours de 230 mg de flavonoïdes sur le profil métabolique	Sang	SM	9 nageurs masculins	Intervalles de haute intensité en natation	Aucun effet de l'ingestion de 230 mg de flavonoïdes n'a été trouvé sur les niveaux de l'inflammation post-exercice, du stress oxydant, de la fonction immunitaire et des changements de métabolites.
Kuehnbaum et al. 2014	Caractérisation métabolomique de 6 semaines d'entraînement en « interval training » (IT) chez la femme obèse	Sang	SM	11 femmes obèses (IMC>25)	10 x 60 secondes à 90% de la FCmax, 3 x par semaine pendant 6 semaines	Les réponses métaboliques sont différentes entre les sujets mais la tolérance au glucose a été améliorée par l'entraînement en IT
Kuhl et al. 2008	Caractérisation métabolomique d'un entraînement de 12 semaines (exercice aérobie) sur le diabète de type 2	Plasmas	SM	12 diabétiques et 8 sujets sains	Pas d'exercice	Amélioration de la sensibilité à l'insuline
Kujala et al. 2013	Caractérisation métabolomique de l'impact de l'inactivité physique	Sérum	¹ H RMN	1037 sujets	Pas exercice	Concentrations en triglycérides, en lipoprotéines de faible densité, en isoleucine, en glycoprotéine α-acide et du glucose plus faibles chez les personnes physiquement actives. Augmentation de HDL chez les sujets entraînés.
Lewis et al. 2010	Caractérisation des réponses métaboliques en fonction du niveau des athlètes	Plasmas	SM	25 marathoniens	Marathon de Boston	Augmentation de la lipolyse et de la production de corps cétoniques. Les coureurs les plus lents ont une augmentation de leurs cycles de Krebs plus importante.

Tableau 3 : récapitulatif des différentes études métabolomiques en médecine du sport et en physiologie de l'exercice (suite)

Références	But	Echantillons	Technique d'acquisition	Sujets	Types d'exercice	Résultats
Morris et al. 2013	Caractérisation métabolomique de l'impact de la condition physique ($\dot{V}O_2\text{max}$)	Urines et plasma	SM	65 sujets	Pas exercice	Meilleure utilisation des lipides chez les sujets entraînés et AAR moins important chez les sujets entraînés. Tolérance à l'insuline plus importante chez les sujets entraînés
Pechlivanis et al. 2013	Caractérisation métabolomique d'un entraînement de 8 semaines, en intervalle de haute intensité	Sérum	^1H RMN	14 sujets masculins	3 séries de 2 x80m séparés par 10s ou 1 min de repos	Augmentation après l'exercice : lactate, pyruvate, alanine et diminution : leucine, valine, isoleucine, arginine / lysine et acétyles des glycoprotéines. Augmentation après entraînement méthylguanidine, citrate, glucose, valine, taurine, histidine, 1- méthylhistidine et 3 méthylhistidine et de l'acétoacétate / acétone. et diminution : lactate, pyruvate, glycoprotéines acétyles et lipides.
Pechlivanis et al. 2010	Caractérisation métabolomique de différents temps de récupération entre les sprints en intervalle de haute intensité	Urines	^1H RMN	12 hommes moyennement entraînés	2x 3 sprints de 80 m, première série avec 10s de repos et deuxième série avec 1 min de repos	La séparation des deux intervalles de repos était principalement dû au lactate, au pyruvate, à l'alanine, aux composés du cycle de Krebs et aux 2-oxoacides du AAR qui augmentent davantage avec l'intervalle le plus court.
Ra et al. 2014	Identification des marqueurs de fatigue salivaire chez les joueurs de football après 3 jours consécutifs d'un programme d'exercice	Salive	SM	122 joueurs de football	1 match de 90 min par jour pendant 3 jours consécutifs	Augmentation de 3-méthylhistidine, du glucose 1- et 6-phosphate, de la taurine et de certains acides aminés qui sont impliqués dans le catabolisme du muscle squelettique, le métabolisme du glucose, le métabolisme lipidique, le métabolisme des acides aminés et le métabolisme énergétique.
Rodriguez et al. 2014	Caractérisation métabolomique d'un entraînement aérobie de 8 semaines sur la bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO)	Plasmas	^1H RMN	18 sujets avec BPCO et 12 sujets sains	Pas d'exercice	Anomalies dans les voies bioénergétiques et le métabolisme des acides aminés (valine, isoleucine) chez les BPCO avant et après l'entraînement. Mais atténuation des différences après l'entraînement

Tableau 3 : récapitulatif des différentes études métabolomiques en médecine du sport et en physiologie de l'exercice (suite)

Références	But	Echantillons	Technique d'acquisition	Sujets	Types d'exercice	Résultats
Sabatine et al. 2005	Caractérisation métabolomique de l'ischémie myocardique	Plasmas	SM	36 patients, 18 avec une ischémie myocardique	Protocole de Bruce test incrémental maximal	23 métabolites modifiés (cycle de Krebs modifié par l'ischémie)
Santone et al. 2014	Classification des footballeurs en fonction de la distance réalisée au Yo-Yo test	Salive	¹ H RMN	14 footballeurs professionnels	Yo-Yo test = test navette 20m	En fonction de la distance réalisée au test, les sujets étaient classés différemment
Wang et al. 2015	Déterminer les effets de différents niveaux d'exercices dans l'entraînement spécifique au snowboard sur le métabolome de l'urine	Urines + plasmas	¹ H RMN	12 snowboarders professionnels	3 semaines d'entraînement en force et en endurance	Modification du cycle de Krebs par diminution de la production de succinate, diminution de triméthylamine et augmentation de la phénylalanine après l'entraînement.
Yan et al. 2009	Caractérisation métabolomique de 2 semaines d'entraînement de 30h par semaine en exercice aérobie	Sang	SM	16 hommes et 8 femmes rameurs professionnelles	pas d'exercice	Lipolyse améliorée. L'endurance de la force du sport a été impliquée dans la perturbation du métabolisme du glucose, du métabolisme lipidique, du stress oxydatif et du métabolisme des acides aminés.

Chapitre II : Contribution personnelle

I. Introduction

Avec le développement des séjours sportifs en altitude et des sports de montagne, plus particulièrement des spécialités d'endurance, de plus en plus de personnes moyennement actives ou entraînées en endurance, sont susceptibles de pratiquer en altitude modérée. Comme vu précédemment, l'altitude altère les performances sportives (Keys et al. 1936; Gore et al. 1996), et ce, par des mécanismes impliquant plusieurs facteurs dont les plus étudiés sont le niveau d'altitude, le temps d'acclimatation et le niveau d'entraînement en endurance. Il est maintenant bien connu que la diminution de la performance en endurance en moyenne altitude est due majoritairement à la moindre disponibilité de l'oxygène au niveau musculaire, via l'action du stress hypoxique sur la cascade de l'O₂. En revanche, il existe peu de connaissances sur les conséquences de l'hypoxie sur l'utilisation des substrats énergétiques et le rôle que cela pourrait jouer sur la diminution de la performance en endurance en altitude. Plusieurs auteurs ont étudié l'utilisation des substrats énergétiques en haute altitude (3 000-4 300m) ou lors d'une simulation hypoxique en plaine (utilisation de simulateur d'altitude). Cependant leurs résultats sont contradictoires. Lors d'un exercice réalisé à une même intensité absolue en plaine et en altitude (45 minutes à 50% de $\dot{V}O_{2max}$), l'utilisation des glucides était plus élevée pendant l'exercice en haute altitude (4 300m) que pendant l'exercice en plaine (Brooks et al. 1991; Roberts et al. 1996a). En revanche, deux autres études ont montré que la haute altitude ou l'hypoxie sévère simulée n'a aucune influence sur l'utilisation des glucides lors d'un exercice réalisé à même intensité relative entre la plaine et l'altitude (60 minutes à 60% de $\dot{V}O_{2max}$ et 60 minutes à 50% de $\dot{V}O_{2max}$) (Bouissou et al. 1987; Lundby et Van Hall 2002). L'interprétation de ces résultats est compliquée car l'utilisation d'une intensité d'exercice absolue similaire entre la plaine et l'altitude, tendrait à accroître l'utilisation de glucose en tant que substrat énergétique (Brooks et Mercier 1994a; Beidleman et al. 2002; Mazzeo 2008b). En effet, l'oxydation des acides gras libres requiert davantage d'oxygène par molécule d'ATP synthétisée que l'oxydation complète des glucides (Hinkle et al. 1991). Or en altitude, rappelons-le, la disponibilité de l'O₂ est moindre. L'augmentation de l'utilisation des glucides observée lors d'un exercice en altitude pourrait alors être liée à l'intensité de l'exercice et non à l'altitude. Les études existantes ne permettent donc pas de discriminer les effets de l'exercice en altitude des effets de l'intensité d'exercice sur l'utilisation des glucides.

La majorité des études cherchant à évaluer l'impact de l'altitude sur le métabolisme sont basées sur une analyse biochimique ciblée d'un petit nombre de métabolites, visant à tester des hypothèses sur les modulations de voies métaboliques spécifiques. En réalité, de nombreux métabolites sont impliqués dans une multitude de voies métaboliques dont l'interdépendance permet d'assurer une homéostasie métabolique. Capturer une vue d'ensemble du métabolome et de ses modulations en fonction de l'exercice et de l'altitude aiderait à révéler des marqueurs des adaptations des voies métaboliques mises en jeu en réponse à ces deux stress physiologiques. En ce sens, la métabolomique est une méthode particulièrement adaptée pour explorer les conséquences de ces adaptations. Il s'agit d'une approche non ciblée, sans a priori et sans hypothèse, pour l'étude des réponses métaboliques induites par différents stimuli. Elle permet grâce à des puissants outils d'analyse des échantillons d'origine biologique et à des méthodes statistiques avancées, de déterminer les variations d'un grand nombre de métabolites simultanément (Nicholson, Lindon, et Holmes 1999).

Les données métabolomiques relatives à l'exercice physique sont très récentes (années 2000) et ont concerné principalement le métabolome sérique ou plasmatique. Les données métabolomiques relatives à l'altitude sont très rares, et concerne la phase d'acclimatation à l'altitude (Luo, Zhu, et Gao 2012) ou l'exposition aigue en haute altitude mais sans exercice (Tissot van Patot et al. 2009; Lou et al. 2014). A l'heure actuelle, aucune étude métabolomique n'a étudié l'incidence d'un exercice d'endurance en moyenne altitude sur les métabolismes chez l'Homme. Nous avons choisi d'investiguer ce champ en utilisant la technique novatrice RMN ¹H sur deux supports biologiques : le plasma et les urines.

1. But et orientation du travail

Notre travail s'est déroulé en plusieurs étapes.

Dans un premier temps, nous avons étudié les modulations du métabolome plasmatique après un exercice d'endurance de 60 minutes en moyenne altitude par ¹H RMN. Ce travail nous a permis d'appréhender : 1) l'utilisation de la ¹H RMN à partir d'échantillons plasmatiques pour mettre en avant des profils métaboliques différents après un exercice d'endurance de 60 minutes entre la plaine et l'altitude, 2) la compréhension des modulations métaboliques dues à l'exercice d'endurance en moyenne altitude dans les plasmas.

La seconde étape a consisté à étudier les modulations du métabolome, par ¹H RMN, après un exercice d'endurance de plus d'une heure jusqu'à épuisement en moyenne altitude afin de se

rapprocher des conditions réelles de pratique. En effet lors d'une course, il y a tout d'abord une phase à intensité moyenne, puis un sprint final qui peut permettre de gagner du temps sur son objectif ou de remporter la course. Pour ce travail, nous avons utilisé les plasmas mais aussi les urines qui présentent l'avantage d'être prélevées de manière non invasive. Ce travail nous a permis d'appréhender : 1) si l'utilisation de prélèvements obtenus non invasivement est une bonne stratégie pour obtenir des empreintes métaboliques différentes entre un exercice d'endurance jusqu'à épuisement réalisé en plaine et en altitude, 2) d'observer si les modulations métaboliques détectées dans les plasmas peuvent aussi être observées dans les urines, 3) la compréhension des modulations métaboliques lors d'un exercice effectué jusqu'à épuisement en altitude.

La troisième étape est la partie la plus novatrice. Il s'agissait d'associer les données métaboliques obtenues dans les plasmas avec les données cardiorespiratoires dans une même matrice de données. Le but était d'appréhender 1) si l'association des données métaboliques plasmatiques et des données cardiorespiratoires, via des méthodes statistiques novatrices et inédites, permet de trouver des corrélations entre ces différentes bases de données, 2) d'avoir un regard complet sur les adaptations à l'exercice en altitude modérée et d'utiliser la métabolomique en physiologie intégrée.

2. Liste des publications et articles en préparation

Article accepté :

Messier Florian M, Laurence Le Moyec, Carole Santi, Anne-Fleur Gaston, Mohamed N Triba, Emma Roca, and Fabienne Durand. The impact of moderate altitude on exercise metabolism in recreational sportsmen: a nuclear magnetic resonance metabolomic approach. 2017. Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism, juin. doi:10.1139/apnm-2016-0717.

Articles en cours d'écriture:

Metabolomics investigation of altitude-modulated changes in metabolism in human urine and plasma after exhaustive endurance exercises at sea level and at altitude.

Liste des communications :

F. Messier, M .N Triba, N Bouchemal, F.Durand, L. Le Moyec. Approche métabolomique des effets de l'altitude modérée sur un exercice d'endurance. 10ème journées scientifiques du réseau francophone de métabolomique et de fluxomique. Mai-Juin 2016, Montpellier.

F. Messier, M.N Triba, L Le Moyec. Application of CCSWA for concomitant analysis of paired NMR data and physiological variables obtained during physical exercises performed at sea level and at altitude. Chimiométrie XVIII, 30 janvier-1 février 2017, Paris.

La suite des publications et des communications ne font pas l'objet de cette thèse mais ont été réalisées l'année précédant la signature de mon contrat doctoral.

Liste de publications ne faisant pas l'objet de cette thèse :

A.F. Gaston, F. Durand, F.Messier, G. Doucende Poles use increases performance during an uphill in Trail Running .. International Journal of Sports Medicine, (en soumission).

Liste des communications ne faisant l'objet de cette thèse:

A.F. Gaston, F. Durand, F. Messier, G. Doucende. Intérêt de l'utilisation des bâtons en trail. 1^{er} colloque de la science du trail, Octobre 2014, Font-Romeu

II. Matériels et méthodes

1. Sujets

L'étude a été réalisée en Catalogne avec vingt-six hommes volontaires. Les sujets sont venus en plaine à Gérone (26 sujets) et à 2 150 m d'altitude à la Masella (22 sujets). Les valeurs anthropométriques ont été mesurées le premier jour des tests. A l'aide d'une pince à plis cutanée Harpenden, 4 plis cutanés ont été mesurés (biceps + triceps + dorsal + abdominal) puis nous avons utilisé la formule de Durnin et Womersley (1974) qui a été validée (Zahariev et al. 2005) pour déterminer le pourcentage de masse grasse. L'âge, la taille, le poids et le pourcentage de masse grasse étaient respectivement de 38 ± 4 ans, 177 ± 6 cm, 78 ± 10 kg et 19 ± 4 % (moyenne \pm écart type). Tous les participants habitaient en plaine et n'étaient pas acclimatés à l'altitude. Ils s'entraînaient en moyenne 9 ± 3 heures par semaine à des intensités faibles à modérées. Aucun des participants n'était fumeur, et ne prenait de médicaments ou de suppléments alimentaires (vitamines...). Les sujets ne présentaient aucune infection ou pathologie cardiopulmonaire qui pourrait contre-indiquer l'exercice. Tous les participants ont été informés des procédures expérimentales et ont donné leur consentement écrit et éclairé pour la participation à l'étude. Le protocole d'étude a été approuvé par un comité d'éthique indépendant local (Consell General de l'Esport, Catalunya, Spain).

2. Design de l'étude

Afin de contrôler l'effet de la nutrition sur l'utilisation des substrats énergétiques pendant l'exercice, les sujets devaient suivre un régime alimentaire normalisé le jour précédant les tests d'exercice. Le régime alimentaire comprenait 55% d'énergie sous forme de glucides, 30% en lipides et 15% en protéines. En plus, le matin avant les tests d'exercice, les sujets ont également reçu un repas standardisé.

L'étude a été réalisée en deux campagnes de tests identiques : un premier, en plaine et un deuxième, deux semaines plus tard, en altitude dans un refuge à 2 150 m. Dans chacune des deux conditions, les participants ont effectué deux tests sur cycloergomètre (Racer 9, Kettler, Allemagne). Le premier test était un test d'effort maximal. Le test commençait avec une période d'échauffement de 3 minutes à 60 W et une cadence de pédalage de 70 tours par minute. Ensuite, la charge de travail augmentait de 30 W toutes les minutes jusqu'à épuisement. Tout au long du test, les données cardiorespiratoires et la SpO₂ étaient

enregistrées. Les tests étaient considérés maximaux quand au moins 3 des 4 critères suivants étaient observés : 1) une augmentation du $\dot{V}O_2$ inférieure à 100 ml entre deux paliers consécutifs ; 2) l'atteinte de la FCmax théorique $[210-(0,65 * \text{âge})]$; 3) un QR supérieur à 1,1 ; et 4) l'incapacité à maintenir une fréquence de pédalage d'au moins 70 tours par minute malgré les encouragements verbaux. Ce protocole avec des incréments de 30 W par minute, a été validé et permet d'obtenir des mesures de $\dot{V}O_{2\text{max}}$ précises et reproductibles (Buchfuhrer et al. 1983).

Le second test se déroulait 24h après le premier test. Il s'agissait d'un exercice d'endurance de 60 minutes à SV1, qui correspond à la première rupture de pente du $\dot{V}E$ lors d'un test à charge croissante, c'est une intensité où l'on peut travailler son endurance (Millet 2006). L'exercice commençait à 60W pendant 3 minutes puis la puissance augmentait de 30 W par minute jusqu'à atteindre l'intensité cible correspondant au SV1 de chaque sujet. Les sujets devaient maintenir une cadence de pédalage de 70 tours par minute. Après 60 minutes d'effort, l'intensité de l'exercice augmentait de 15W par minute jusqu'à ce que les sujets ne puissent plus maintenir l'effort.

Lors des deux tests, les paramètres cardio-respiratoires et la SpO₂ ont été mesurés tout au long de l'exercice. Des prélèvements sanguins et urinaires ont été également réalisés (Figure 23). Avant l'effort, puis toutes les 15 minutes, les sujets pouvaient boire 25 cl d'eau.

Durant la période d'expérimentation en altitude, les participants arrivaient 90 minutes avant leur test d'effort maximal à 2 150 m, sans qu'il n'y ait eu de phase d'acclimatation. Entre le test d'effort maximal et le test d'endurance, les sujets étaient logés dans des bungalows à environ 1000 m d'altitude. Le deuxième jour, les sujets arrivaient 90 minutes avant leur test d'endurance à 2150m d'altitude. Le laps de temps entre le test d'effort maximal et le test d'endurance était au maximum de 36 heures. Notre étude s'est donc déroulée en hypoxie aiguë.

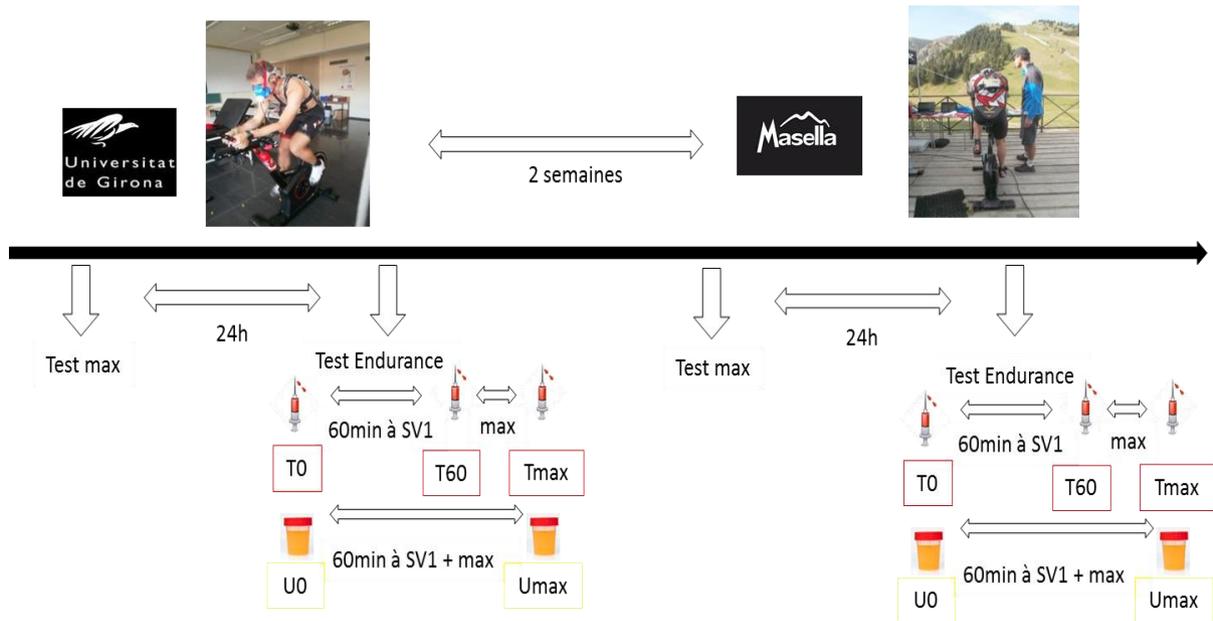


Figure 23 : Design de l'étude

T0 : prélèvement sanguin avant l'exercice d'endurance, **T60** : prélèvement sanguin après l'exercice d'endurance de 60 minutes à SV1, **U0** : prélèvement urinaire avant l'exercice d'endurance, **Umax** : prélèvement urinaire après l'exercice d'endurance de 60 minutes à SV1 et incrémentation de l'intensité jusqu'à épuisement.

3. Mesures des échanges gazeux et des paramètres cardio-respiratoires

L'enregistrement des données cardio-respiratoires a été effectué, pour le test d'effort maximal et le test d'endurance, en utilisant un analyseur d'échanges gazeux portatif qui enregistre les données cycle à cycle en continu (K4b2, Cosmed, Rome, Italie). Les données enregistrées étaient : la $\dot{V}O_2$, les équivalents respiratoires en oxygène ($\dot{V}E/\dot{V}O_2$) et en dioxyde de carbone ($\dot{V}E/\dot{V}CO_2$), la $\dot{V}E$ et le QR ($\dot{V}CO_2/\dot{V}O_2$). Le système était calibré en respectant les normes et la procédure du fabricant à savoir une seringue de 3 L pour les volumes et une bouteille de gaz en proportions de 16% en O_2 et 5% en CO_2 . Les athlètes portaient également une ceinture cardio-fréquence-mètre (Polar Electro, Kempele, Finlande) permettant d'enregistrer la FC en continu, ainsi qu'un oxymètre (Nonin, Minnesota, USA) équipé d'un capteur à l'oreille permettant de mesurer la saturation pulsée en oxygène dans le sang (SpO_2). Cette méthode est non invasive et facilement transportable, de plus, sa fiabilité a été validée par plusieurs études (Martin et al. 1992; Mollard et al. 2010; Trivedi et al. 1997). Afin d'assurer une mesure fiable, le capteur et le câble étaient attachés sur le harnais du K4b2 et une crème vasodilatatrice (Finalgon, Fher, Espagne) était appliquée sur le lobe de l'oreille avant les tests.



Figure 24 : Participants équipés du K4b2 lors de l'expérimentation en plaine à Gérone (à gauche) et a la Masella. (à droite)

Les seuils ventilatoires ont été déterminés à l'aide de la méthode de Wasserman et al. 1973 selon les recommandations en vigueur de la Société Française de Médecine du Sport (Vallier et al. 2000). La lecture des courbes de $\dot{V}E$, $\dot{V}E/\dot{V}O_2$ et de $\dot{V}E/\dot{V}CO_2$ a été réalisée par deux expérimentateurs différents. Le SV1 correspond à l'élévation du rapport $\dot{V}E/\dot{V}O_2$ sans augmentation concomitante du rapport $\dot{V}E/\dot{V}CO_2$ et le seuil ventilatoire 2 (SV2) à l'élévation du rapport $\dot{V}E/\dot{V}CO_2$ (figure 25). Dans les deux cas, la lecture de $\dot{V}E$ (représentée par une cassure nette) permettait d'affiner la détermination des seuils.

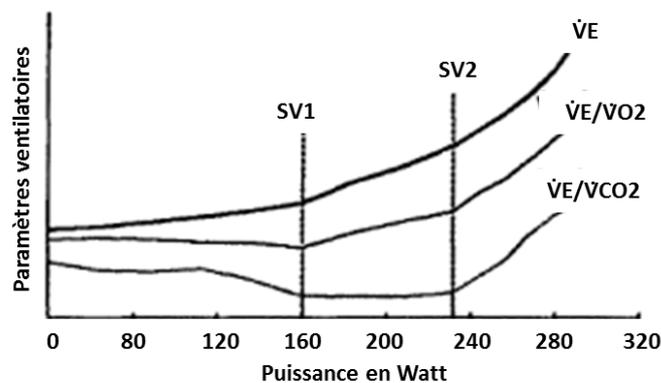


Figure 25 Définitions graphiques des seuils ventilatoires (Vallier et al. 2000).

4. Collecte des échantillons sanguins et urinaires

Les échantillons de sang ont été prélevés dans la veine cubitale médiane (dans la fosse cubitale antérieure du coude) dans un tube de lithium-héparine de 7 mL avant l'exercice d'endurance (T0), après 60 minutes d'exercice à SV1 (T60) et après l'incrément de l'intensité d'exercice jusqu'à épuisement (Tmax). Lors du prélèvement à T60, les participants

pédalaient encore (afin de maintenir leur effort au VT1). Le plasma a été séparé par centrifugation à 4°C pendant 10 minutes à 2500 G. Les échantillons de plasmas ont ensuite été divisés en aliquots et conservés à -80°C jusqu'à l'analyse. De plus, avant et juste après l'arrêt de l'effort, du sang a été prélevé afin de mesurer la concentration d'hémoglobine et l'hématocrite à l'aide du système Hémocritol (EKF diagnostic, Allemagne) qui est un appareil capable de mesurer par photométrie le niveau d'hémoglobine dans le sang et de calculer l'hématocrite. Les modulations du volume plasmatique (VP) ont été calculées selon l'équation de Strauss et al. 1951.

$$\% \text{ de variation du volume plasmatique} = 100 * \left(\frac{Hb \text{ avant}}{Hb \text{ après}} \right) * \left(\frac{1 - Hct \text{ avant}}{1 - Hct \text{ après}} \right) - 100$$

Les échantillons d'urines ont été collectés avant (U0) et après (Umax) le test d'endurance jusqu'à épuisement en plaine et en altitude dans des pots à urines stériles. Les urines ont été divisées en 3 aliquots de 500 µl, congelés à -20°C et stockés à -80°C.

5. Acquisition des signaux RMN (FID) des plasmas et des urines

Les échantillons de plasma et d'urines ont été décongelés à température ambiante. Pour le plasma, 450 µL ont été placés dans un tube RMN de 5 mm, avec 100 µL d'oxyde de deutérium (D₂O). Pour l'urine, 400 µL et 100 µl de D₂O ont été insérés dans un tube RMN de 5 mm de diamètre. Les spectres ont été acquis à l'aide d'un spectromètre Advance III à 500 MHz (Spectromètre Advance III, Bruker, France) avec une sonde 5mm inverse équipée de gradient (sonde QXi Z Bruker). Le signal de précession libre ou « free induction decay » (FID) a été acquis en utilisant la séquence NOESY 1D presat (ou Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy), avec un délai de relaxation de 2 s, un temps de mélange de 100 SM. Les FID ont été enregistrés après 64 scans sur 32 K points complexes pour une fenêtre spectrale de 10 000 Hz. La séquence NOESY 1D est très appliquée en métabolomique car elle donne une meilleure suppression du signal de l'eau, elle ne nécessite que peu d'optimisation des paramètres et c'est une séquence robuste et reproductible (Mckay 2011).

6. Traitement des spectres RMN des plasmas et des urines

Les FID des plasmas et des urines ont été traités avec le logiciel NMRpipe. Les FIDs ont été traités par une transformée de Fourier avec une apodisation par une fonction exponentielle

correspondant à un élargissement des raies de 0.3 Hz. Les spectres ont été phasés manuellement et une correction de ligne de base de 10 points a été appliquée. Chaque spectre a été calibré en utilisant le signal d'alanine à 1,48 ppm.

Les FIDs des plasmas et des urines ont été traités avec le logiciel NMRpipe par une transformée de Fourier avec une apodisation par une fonction exponentielle correspondant à un élargissement de 0.3 Hz. L'échelle des déplacements chimiques a été calibrée par rapport à la résonance de l'alanine à 1.48 ppm pour les spectres des plasmas et par rapport à la résonance de la créatinine à 3.05 ppm pour les spectres d'urine. Chaque spectre a été phasé manuellement et la ligne de base corrigée par 5 segments linéaires entre 10 à 5 ppm, afin de limiter les déformations dues à la superposition des signaux dans les régions encombrées. Pour les spectres des plasmas, la région spectrale entre 0 et 10 ppm a été divisée en buckets de 0.001 ppm de largeur et la surface de chacun de ces buckets est calculée afin de constituer la matrice X dont chaque ligne correspond à chaque spectre et chaque colonne à un bucket dénommé par la valeur moyenne de déplacement chimique. La région de l'eau (entre 4,6 et 5,15 ppm) a été exclue. Pour les spectres d'urine, la région spectrale entre 0.7 et 8.5 ppm a été divisée en buckets de 0.001 ppm de largeur afin de constituer la matrice X de la même manière que pour les plasmas en éliminant également la région de l'eau entre 4.5 et 5 ppm.

Cette matrice X est normalisée dans Matlab (Mathworks, Natick, MA) à l'aide d'un script, écrit par Mohamed N. Triba. Les spectres (les lignes) sont normalisés par la méthode « probabilistic quotient normalization » (Dieterle et al. 2006). Cette méthode est validée pour limiter les effets de concentrations des échantillons liés à une éventuelle déshydratation après l'effort. Les surfaces des buckets, qui sont les variables à analyser, ont été centrées et normées. Cette nouvelle matrice normalisée sera celle utilisée pour les analyses statistiques multivariées. Néanmoins, les déplacements chimiques de certains métabolites sont très sensibles au pH. Ainsi, les variations de pH peuvent aboutir à des décalages des résonances dans la matrice X et donc des erreurs dans l'analyse statistique. Certains travaux ont montré qu'il était possible de réaligner les résonances pour l'ensemble de la matrice X.

Pour notre étude, nous avons utilisé l'outil icoshift écrit pour Matlab (Mathworks, Natick, MA) qui est un programme open source très efficace conçu spécifiquement pour résoudre des problèmes d'alignement de signal dans l'analyse de données RMN (Figure 26). L'algorithme Icosshift est basé sur « CORrelation SHIFTing » des intervalles spectraux et utilise un moteur FFT qui aligne tous les spectres simultanément. L'algorithme est plus rapide que les méthodes

similaires trouvées dans la littérature rendant possible l'alignement complet des grands ensembles de données (Savorani et al. 2010, 2013; Tomasi et al. 2011).

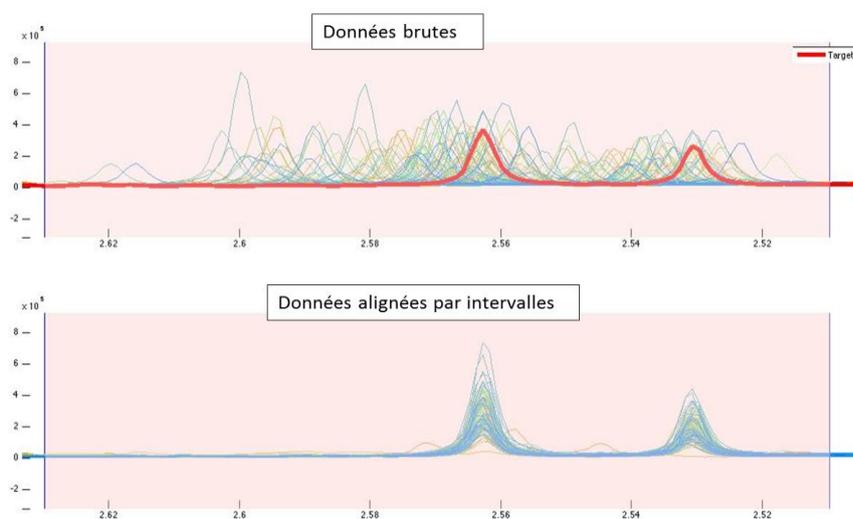


Figure 26 : Exemple de réaligement des spectres dans Matlab en utilisant l'outil Icoshift

Les meilleurs résultats ont été obtenus en divisant nos spectres en 35 intervalles à réaligner sur le spectre médian. Pour 6 d'entre eux un alignement parfait a été obtenu. De ce fait, nous avons choisi de réaligner les autres parties à l'aide du spectre le plus représentatif de l'intervalle à réaligner.

7. Analyses statistiques

Pour comparer les spectres de plasma entre T0 (plasma avant effort) et T60 (plasma après 60 min d'effort à SV1), entre T0 et Tmax (plasma après effort jusqu'au « finish ») et les spectres d'urines entre UO (urine avant test endurance) et Umax (urine après effort jusqu'au « finish »), les modèles ont été calculés après appariement des échantillons T0 et T60, T0 et Tmax ainsi que des échantillons UO et Umax du même sujet dans la même condition (plaine ou altitude) suivant la méthode de Westerhuis et al. (2010). Ainsi, chaque sujet est son propre contrôle, l'appariement permet donc de limiter les variations métaboliques qui sont dues aux différences de métabolome intra-individuelles. L'analyse en composante principale (ACP), non supervisée, et l'analyse « orthogonal projection to latent structure » (OPLS), méthode supervisée ont été réalisées grâce au script écrit par M. Triba dans Matlab utilisant l'algorithme de Trygg et Wold (2002).

L'ACP a d'abord été effectuée avec la matrice X, afin de détecter toute séparation de groupe (en fonction de la variabilité du signal RMN et des valeurs aberrantes éventuelles). Afin de

détecter les valeurs aberrantes, nous avons utilisé la statistique T2 de Hotelling qui décrit le comportement des variables du processus qui sont corrélées avec les premières composantes principales. Ainsi on peut définir un seuil de tolérance donné par le quantile de la loi de Khi-deux à partir duquel un défaut est détecté. Si un échantillon sort de l'ellipse des 95% du T2 Hotelling sur la représentation graphique alors cet échantillon correspond à une valeur aberrante (Hotelling 1933). L'OPLS a été appliquée aux données de la matrice X ou données RMN afin de les corrélées à une matrice Y qui décrit les groupes à classer. Cette matrice Y est le résultat du codage des facteurs tels que plaine ou altitude ou bien le temps, T0, T60 ou Tmax. La qualité du modèle OPLS calculé a été évaluée en fonction du coefficient de corrélation (R^2Y) et du coefficient prédictif (Q^2Y): $R^2Y = 1$ indique une reproductibilité parfaite des données par le modèle, tandis que $Q^2Y = 1$ indique une prédictibilité parfaite. Q^2Y a été calculé avec la méthode de validation croisée "leave-one-out" (N. Triba et al. 2015). Un test de 999 permutations a également été utilisé pour la validation interne des modèles OPLS, c'est-à-dire pour savoir si les modèles OPLS construits avec les échantillons étaient significativement meilleurs que tout autre modèle OPLS obtenu par permutation aléatoire. Un score plot et un loading plot ont été utilisés pour interpréter et illustrer les résultats. Sur le score plot, chaque point représente la projection d'un spectre RMN (et donc d'un échantillon de plasma ou d'urine) sur la composante prédictive du modèle (T_{pred} , axe horizontal) et la première composante orthogonale (T_{orth} , axe vertical). Le loading plot représente la covariance entre la valeur Y de la matrice et l'intensité du signal des différentes régions spectrales. Les couleurs ont été utilisées dans le loading plot, en fonction de la valeur du coefficient de corrélation r correspondant à la corrélation entre l'intensité de bucket et la variable Y correspondante. Les régions des spectres ont été considérées comme discriminantes lorsque la valeur de r des buckets constituant leur signal RMN présentait une valeur absolue de $r \geq 0.5$ dans les plasmas et $|r| \geq 0.4$ dans les urines. Les régions spectrales ont ensuite été étudiées afin d'identifier les métabolites responsables de la classification. Les métabolites ont été identifiés en utilisant les données de la littérature et la base de données sur le métabolome humain (HMBD, Université d' Alberta, Canada, Wishart 2007).

Un test t apparié ou le test de Wilcoxon a été utilisé pour analyser les différences des paramètres cardiorespiratoires entre la plaine et l'altitude. Pour ces derniers tests, le seuil statistique de significativité a été fixé à $p < 0,05$. Les analyses ont été menées à l'aide du logiciel SigmaStat (version 3.5, Systat Software Inc., San José, CA, USA). Les données sont affichées avec les moyennes \pm écart type.

III. Impact de l'altitude modérée sur le métabolisme à l'exercice chez les sportifs moyennement entraînés : approche métabolomique par ^1H RMN

1. Introduction



ARTICLE

The impact of moderate altitude on exercise metabolism in recreational sportsmen: a nuclear magnetic resonance metabolomic approach

Florian M. Messier, Laurence Le Moyec, Carole Santi, Anne-Fleur Gaston, Mohamed N. Triba, Emma Roca, and Fabienne Durand

Received 23 December 2016. Accepted 7 June 2017.

F.M. Messier, C. Santi, A.-F. Gaston, and F. Durand. Laboratoire Européen Performance Santé Altitude EA4604 - Université de Perpignan Via Domitia, Département STAPS, 7 Avenue Pierre de Coubertin, Font-Romeu, France.

L. Le Moyec. Unité de Biologie Intégrative et Adaptation à l'Exercice, EA 7362, Université d'Evry Val D'Essonne, Evry, France.

M.N. Triba. Chimie Structures Propriétés de Biomatériaux et d'Agents Thérapeutiques, CNRS UMR 7244, Université Paris 13 Sorbonne Paris Cité, Bobigny, France.

E. Roca. Laboratoire Européen Performance Santé Altitude EA4604 - Université de Perpignan Via Domitia, Département STAPS, 7 Avenue Pierre de Coubertin, Font-Romeu, France; Facultat de Medicina, Universitat de Girona, QEmili Grahit 77, Girona, Spain.

Corresponding author: Florian M. Messier (email: florian.messier@univ-perp.fr).

Copyright remains with the author(s) or their institution(s). Permission for reuse (free in most cases) can be obtained from RightsLink.

Appl. Physiol. Nutr. Metab. 00: 1-7 (0000) doi:doi.org/10.1139/apnm-2016-0717

Published at www.nrcresearchpress.com/apnm on 30 June 2017.

Dans cette partie, nous allons présenter les résultats de l'article publié et obtenus avec les plasmas prélevés lors du test d'endurance de 60 minutes à SV1. Ces échantillons ont été analysés en utilisant la métabolomique par ^1H RMN. Pour cette partie, nous avons choisi de garder 20 sujets en plaine et 20 sujets en altitude afin d'avoir le même nombre de sujets entre la plaine et l'altitude. De plus, ceci nous permet de comparer les mêmes sujets dans les mêmes conditions. Cette étude a donné lieu à une publication dans Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism (Messier et al. 2017) (Annexe 2).

2. Résultats

Données cardiorespiratoires

L'analyse des tests maximaux incrémentés a révélé une $\dot{V}\text{O}_2\text{max}$ inférieure et une puissance de travail inférieure en altitude par rapport à la plaine (46 ± 7 vs 53 ± 8 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$ respectivement, $p < 0.05$, et 376 ± 53 vs 401 ± 61 W, respectivement, $p < 0,05$). La différence de $\dot{V}\text{O}_2\text{max}$ entre l'altitude et la plaine était de $-13 \pm 3\%$. Le QRmax était supérieur à 1,1 dans

chaque situation et était plus élevé en altitude qu'en plaine ($1,26 \pm 0,07$ vs $1,15 \pm 0,04$ respectivement $p < 0,05$).

Les données des performances mesurées lors du test d'effort d'endurance, en plaine et en altitude sont rapportées dans le tableau 4. La $\dot{V}O_2$, la puissance d'exercice, la SpO_2 et la FC lors de l'exercice de 60 minutes à SV1 étaient significativement inférieures en altitude par rapport à la plaine, alors que l'intensité relative du test (exprimée en pourcentage de $\dot{V}O_{2max}$ mesurée pendant le test d'exercice maximal correspondant) était la même dans les deux conditions. Le rapport VE / VCO_2 et QR étaient plus élevés en altitude qu'en plaine ($p < 0,05$). VE était le même en altitude et en plaine.

Tableau 4 : Données cardio-respiratoires et des performances moyennes du test d'effort d'endurance entre 20 min et 60 min.* Significativement différent de la plaine ($p < 0,05$). n = 20 dans chaque groupe; $\dot{V}O_2$: consommation d'oxygène; VE: ventilation par minute; $P_{et} CO_2$: valeur de la pression en CO_2 en fin d'expiration ; SpO_2 : saturation en O_2 de l'hémoglobine; FC: fréquence cardiaque; QR: quotient respiratoire.

	Moyenne entre 20 et 60 min	
	Plaine n =20	Altitude n =20
$\dot{V}O_2$ test endurance ($ml.min.kg^{-1}$)	36 ± 5	$31^* \pm 6$
$\dot{V}O_2$ max (%)	69 ± 7	67 ± 8
Puissance développée (Watts)	203 ± 34	$183^* \pm 31$
$\dot{V}E$ ($L.min^{-1}$)	70 ± 12	71 ± 9
$\dot{V}E / \dot{V}CO_2$	27 ± 4	$31^* \pm 4$
$P_{et} CO_2$ (mmHg)	42 ± 3	$36^* \pm 4$
SpO_2 (%)	98 ± 4	$92^* \pm 2$
FC (bpm)	139 ± 14	$130^* \pm 15$
QR	0.92 ± 0.06	$0.97^* \pm 0.05$

Métabolomique

La figure 27 représente l'ACP appliquée aux données avant les tests d'endurance (T0) en plaine et en altitude. Le modèle n'a pas été capable de discriminer les échantillons en plaine T0 et les échantillons en altitude T0, ce qui indique que les profils métaboliques des

participants étaient similaires avant l'exercice en plaine et en altitude. Cependant, deux des échantillons (un échantillon en plaine et un échantillon en altitude pour le même sujet) étaient clairement des valeurs aberrantes. Ce participant avait un régime alimentaire particulier, comprenant une forte proportion d'aliments contenant de l'huile (comme les olives, les noisettes et les noix). Ce participant a été exclu des analyses ultérieures.

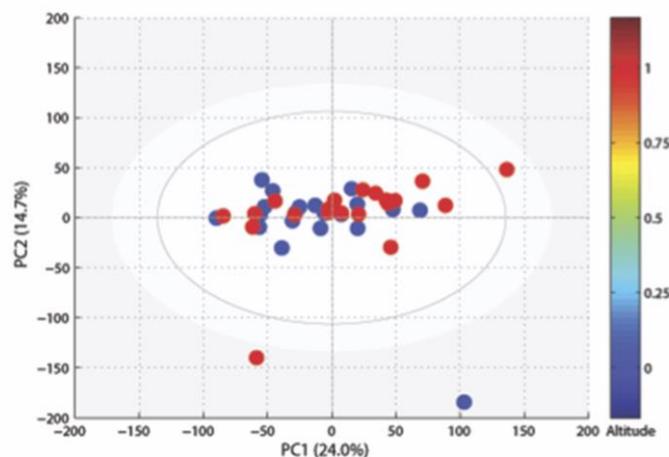


Figure 27 : Score plot du modèle ACP obtenu avec les plasmas avant le test d'effort d'endurance en plaine (T0) (rouge) et en altitude (T0) (bleu).

Les spectres d'échantillons de plasma obtenus à T0 et T60 en plaine ont été appariés avant les analyses statistiques. Le score-plot de l'ACP (figure 28a) a démontré que l'ensemble des échantillons en plaine ne présentaient pas de cas aberrants. Toutefois, deux nuages de points, l'un pour les échantillons T0 et l'autre pour les échantillons T60, se séparent le long de la 2^{ème} composante et plus faiblement le long de la 1^{ère} composante. Le modèle OPLS comparant les spectres T0 et T60 en plaine (Figure 28b), affiche de bons paramètres statistiques (3 composantes, $R^2Y = 0.977$ et $Q^2Y = 0.726$). Le processus de permutation a validé ce modèle, car aucune des valeurs Q^2T obtenues par permutation n'était supérieure à la valeur Q^2Y obtenue avec des données non permutoées (figure 28d). Le loading plot (figure 28c) indique les corrélations entre les régions spectrales et l'axe de prédiction. Les régions spectrales avec une corrélation supérieure à $|0,5|$ sont listées dans le tableau 5, ainsi que leur attribution aux métabolites. Ces régions correspondent principalement au signal de glycérol (3,65 et 3,57 ppm) qui était plus élevé à T60 qu'à T0 et aux signaux des lipides (4,29 ; 2,01 ; 1,57 ; 1,28 ; et 0,9 ppm) qui étaient inférieurs à T60 comparés à T0.

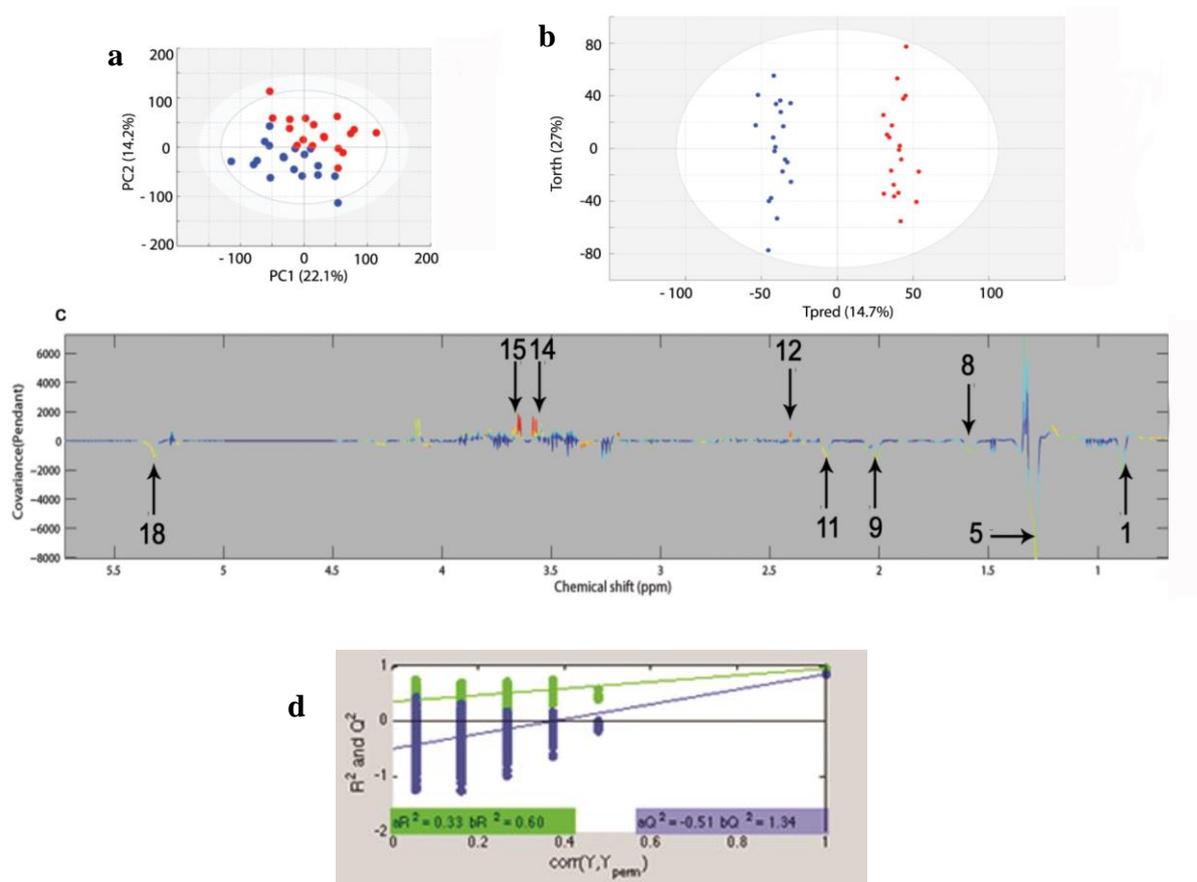


Figure 28 : Figures du profil métabolomique entre T0 et T60 en plaine a) Score plot du modèle ACP obtenu avec les spectres des plasmas prélevés en plaine avant le test d'effort d'endurance (T0, bleu) et après 60 min de test d'effort d'endurance (T60, rouge) b) Score plot du modèle OPLS obtenu lors de la comparaison des spectres à T0 (bleu) et à T60 (rouge) c) Loading plot de l'OPLS en plaine. Les variations des métabolites sont représentées dans la région spectrale de 0,5 à 5,5 ppm. Les signaux positifs correspondent aux métabolites dont les concentrations sont accrues dans le plasma après l'exercice (T60). À l'inverse, les signaux négatifs correspondent aux métabolites présents à des concentrations accrues dans le plasma avant l'exercice (T0). Les couleurs correspondent au coefficient de corrélation r . Les buckets sont légendés selon les attributions aux métabolites présentées dans le tableau 5.d) Graphique du test de validation interne du modèle OPLS avec 999 permutations

Les spectres des échantillons de plasma obtenus à T0 et T60 en altitude ont été appariés avant les analyses statistiques. Lors de l'analyse des spectres obtenus en altitude, l'ACP a démontré que les échantillons étaient situés à l'intérieur de l'ellipse des 95% de la distribution (T2 Hotelling) sans cas aberrants. Dans ce cas également, le score plot montre un regroupement des échantillons T0 se distinguant des échantillons T60 le long de la 2^{ème} composante et plus faiblement de la 1^{ère} composante (Figure 29a). Le modèle OPLS comparant les spectres T0 et T60 en altitude, (Figure 29b) affiche de bons paramètres statistiques (3 composantes, $R^2Y = 0.990$ et $Q^2Y = 0.756$). Encore une fois, le processus de permutation a validé le modèle (Figure 29d). Le loading plot (Figure 29c) indique les corrélations entre les régions spectrales

et l'axe de prédiction. Les régions spectrales avec une corrélation supérieure à $|0,5|$ sont listées dans le tableau 5, ainsi que leur attribution aux métabolites. Ces régions correspondaient principalement aux signaux de glycérol (3,65 et 3,57 ppm) et de lactate (1,32 ppm) qui étaient plus élevés à T60 qu'à T0 et aux signaux des lipides (4,29 ; 2,01 ; 1,57 ; 1,28 ; et 0,9 ppm), du glucose (entre 3 et 4 ppm), de la glutamine (2,45 et 2,09 ppm), de l'alanine (1,48 ppm) , valine (1,04 ppm), L-leucine (0,99 ppm) et du L-isoleucine (0,95 ppm) qui étaient inférieurs à T60 par rapport aux valeurs à T0.

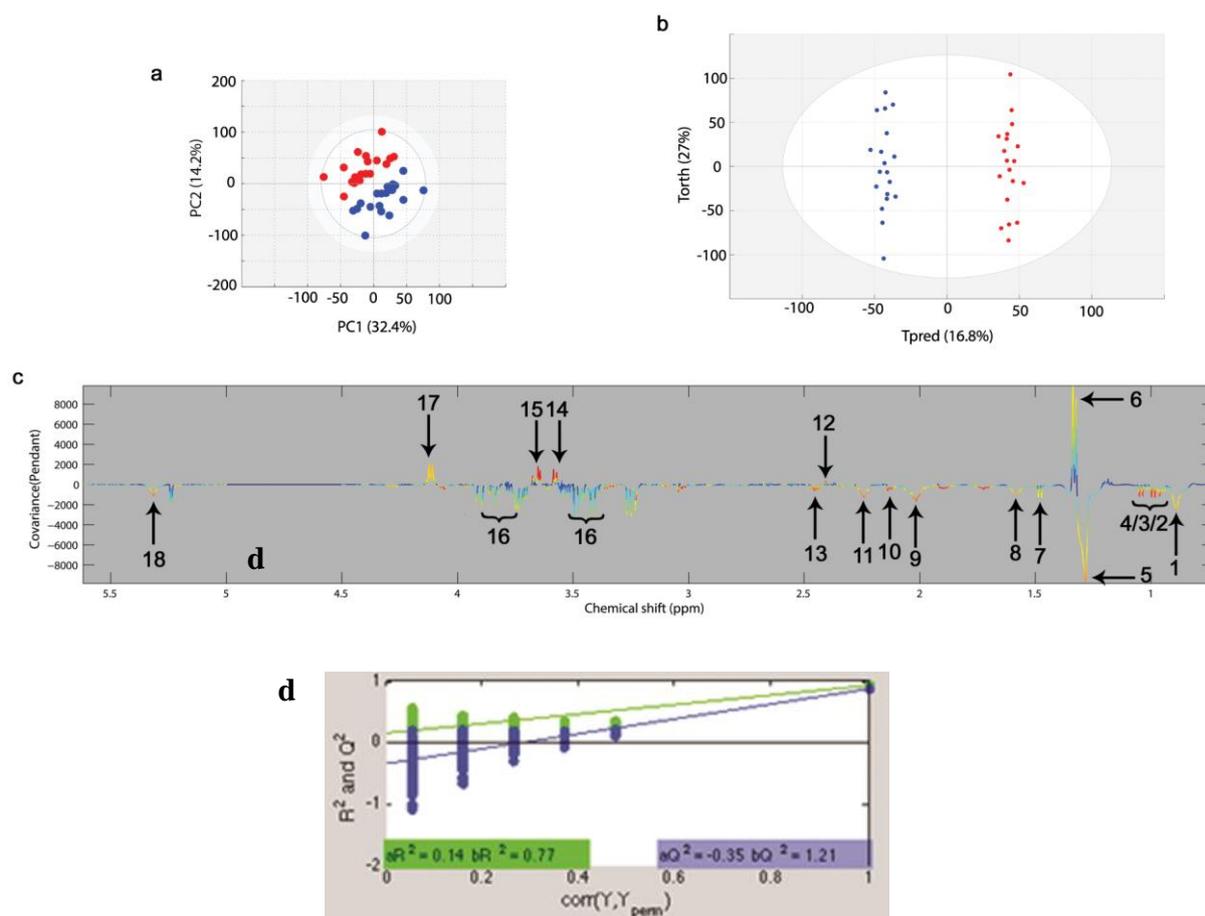


Figure 29 Figures du profil métabolomique entre T0 et T60 en altitude a) Score plot du modèle ACP obtenu avec les spectres des plasmas prélevés en altitude avant le test d'effort d'endurance (T0, bleu) et après 60 min de test d'effort d'endurance (T60, rouge) b) Score plot du modèle OPLS obtenu lors de la comparaison des spectres à T0 (bleu) et à T60 (rouge) c) Loading plot de l'OPLS en altitude. Les variations des métabolites sont représentées dans la région spectrale de 0,5 à 5,5 ppm. Les signaux positifs correspondent aux métabolites dont les concentrations sont accrues dans le plasma après l'exercice (T60). À l'inverse, les signaux négatifs correspondent aux métabolites présents à des concentrations accrues dans le plasma avant l'exercice (T0). Les couleurs correspondent au coefficient de corrélation r . Les buckets sont légendés selon les attributions aux métabolites présentées dans le tableau 5. d) Graphique du test de validation interne du modèle OPLS avec 999 permutations

Tableau 5 Liste des résonances présentant un coefficient de corrélation dont la valeur absolue est supérieure à 0,5 sur le loading plot du modèle OPLS : Attribution des métabolites et légende correspondante dans le loading plot. r = coefficient de corrélation

Déplacements chimiques (ppm)	Métabolites	Légende	T0 Vs T60	
			r plaine	r altitude
0.9	CH ₃ des acides gras	1	-0.5	-0.7
0.96	L-isoleucine	2	-	-0.8
0.99	L-leucine	3	-	-0.8
1.04	L-valine	4	-	-0.8
1.29	CH ₂ des acides gras	5	-0.5	-0.7
1.32	Lactate	6	-	0.6
1.48	Alanine	7	-	-0.6
1.57	CH ₂ des acides gras	8	-0.5	-0.7
2.01	Acide gras	9	-0.5	-0.75
2.12	Glutamine	10	-	-0.7
2.24	Acetone	11	-0.55	-0.55
2.41	Succinate	12	0.8	0.8
2.45	Glutamine	13	-	-0.7
3.57	Glycérol	14	0.9	0.9
3.65	Glycérol	15	0.9	0.9
3.0-4.0	Glucose	16	-	-0.5
4.1	Lactate	17	-	0.6
5.32	Double liaison acides gras	18	-0.55	-0.6

3. Discussion

L'objectif de cette étude était de déterminer si les voies métaboliques utilisées pendant l'exercice d'endurance de 60 minutes à SV1 différaient selon la condition : plaine ou altitude (à la même intensité relative d'exercice).

La spectrométrie ^1H RMN est une technique utilisée en métabolomique efficace, robuste et reproductible permettant la détermination de profils métaboliques sans nécessiter une préparation de l'échantillon et de manière globale sans pré-sélection des voies métaboliques explorées. Dans cette présente étude, l'application d'une méthode métabolomique a révélé des changements dans les trois voies métaboliques principales (glucidique, lipidique et protéique) induites par l'exercice en plaine et en altitude modérée par rapport à la plaine. Des recherches antérieures (utilisant des méthodes biochimiques traditionnelles) ont montré une modulation partielle de ces voies, tandis que la métabolomique a simultanément collecté des informations sur de nombreux métabolites en une seule expérience (Gao et al. 2008), facilitant ainsi l'identification rapide des voies métaboliques impliquées lors de ces tests en plaine et en altitude. En ce qui concerne les variations interindividuelles des profils métaboliques pendant l'exercice, il est très connu que le régime alimentaire a un effet majeur (Chorell et al. 2009; Miccheli et al. 2009; Kirwan et al. 2009). Dans cette étude, nous avons réduit (mais pas éliminé) la variabilité interindividuelle en demandant aux participants de suivre un régime normalisé 24 heures avant les tests et le jour des tests. De plus, nous avons apparié les spectres avant et après effort du même sujet en plaine et en altitude pour modéliser les données; chaque participant a agi comme son propre contrôle, minimisant ainsi les variations intra-individuelles (Westerhuis et al. 2010). Des tests d'exercice maximaux en plaine et en altitude ont été utilisés pour déterminer VT1, ce qui nous permet de minimiser les biais liés à l'intensité de l'exercice en plaine et en altitude. Nos données ont confirmé que le même degré de stress physiologique était présent lors de l'exercice d'endurance en plaine et en altitude, avec une intensité relative similaire (69% de $\dot{V}\text{O}_2\text{max}$ en plaine contre 70% en altitude, pour des $\dot{V}\text{O}_2\text{max}$ mesurés lors du test d'effort maximal incrémental). Nos tests en plaine et en altitude n'ont pas été effectués dans un ordre aléatoire. Nous savons que le manque de randomisation peut avoir influencé les tests par effet d'apprentissage. Cependant, les participants de l'étude étaient des sportifs moyennement entraînés qui connaissaient déjà le cyclisme d'endurance. Étant donné que le test en altitude a été effectué dans un refuge en

altitude (et non en plaine dans des conditions hyperbares), les contraintes logistiques nous ont empêché d'effectuer les tests aléatoirement entre la plaine et l'altitude.

Comme cela a déjà été décrit dans la littérature, la $\dot{V}O_2$, la puissance d'exercice et la SpO_2 pendant l'exercice étaient significativement plus faibles en altitude qu'en plaine (Gore et al. 1996; Gaston et al. 2016). Bien qu'aucune différence n'ait été observée pour le VE pendant l'exercice entre la plaine et l'altitude, $\dot{V}E/VCO_2$ était plus élevé et $PetCO_2$ était plus faible en altitude qu'en plaine - suggérant une hyperventilation excessive et une mauvaise efficacité ventilatoire (Mollard, Woorons, Letournel, Lamberto, et al. 2007). Le QR mesuré à T60 était supérieur en altitude qu'en plaine, ce qui suggère une plus grande consommation de glucose en altitude modérée. Néanmoins, le QR peut avoir été influencé par plusieurs paramètres, tels que le régime de pré-test et le jeûne pendant la nuit (Jansson 1982; Beidleman et al. 2002). Ce biais a été minimisé dans la présente étude car les participants ont eu le même régime alimentaire 24 heures avant chaque test. Deuxièmement, la valeur du QR dépend de la précision des mesures calorimétriques indirectes pendant l'exercice. L'hyperventilation peut conduire à une surestimation de la production de CO_2 tissulaire (Ferrannini 1988). Le $\dot{V}E/VCO_2$ élevé à T60 lors du test en altitude suggère ce type de surestimation. En effet, cette découverte est en accord avec le rapport de Katayama et al. (2010) sur les valeurs plus élevées du QR lors de l'exercice en hypoxie modérée normobarique (simulant une altitude de 2000 m). En revanche, les études réalisées à des altitudes supérieures (Lundby et Van Hall 2002 et Bouissou et al. 1987) n'ont observé aucune différence du QR pendant l'exercice à la même intensité relative (50 ou 60% de la $\dot{V}O_{2max}$) par rapport à la plaine.

Les modèles statistiques discriminants les plasmas obtenus à T0 et à T60 démontrent des profils métaboliques différents lors de l'exercice en plaine et en altitude. Ces profils métaboliques permettent de décrire des adaptations métaboliques à l'exercice d'endurance différentes entre la plaine et l'altitude. Par conséquent, ces résultats ont confirmé notre hypothèse selon laquelle les voies d'approvisionnement en énergie métabolique diffèrent lors d'un exercice entre la plaine et l'altitude. Les principales différences concernent le glucose et les acides aminés circulants, mais pas les lipides. En effet, à la même intensité d'exercice relative (SV1) en plaine et en altitude, l'utilisation de lipides était similaire, mais les taux de glucose, de glutamine, d'alanine et d'AAR étaient plus faibles dans le profil métabolique à T60 en altitude. Ces métabolites n'étaient pas discriminants dans le modèle OPLS calculé pour le test en plaine. De même, le lactate a été élevé en altitude - peut-être dû (au moins en partie) à une glycolyse accrue, comme l'ont suggéré Katayama et al. (2010).

Il est bien connu que les lipides sont consommés pendant un exercice d'endurance modéré (Brooks et Mercier 1994a; Horowitz et Klein 2000). Une augmentation de la teneur en glycérol résulte de la libération d'acides gras libres à partir de triglycérides. Nos données n'ont révélé aucune différence entre la plaine et l'altitude sur le métabolisme lipidique. Ceci est en accord avec les données de la littérature suggérant qu'à des charges de travail relatives équivalentes (en pourcentage de $\dot{V}O_2\text{max}$), l'utilisation du substrat lipidique est inchangée pendant l'hypoxie aiguë et chronique (Lundby et Van Hall 2002).

Selon les profils métabolomiques, la glycémie est diminuée pendant le test en altitude mais pas en plaine. Dans la présente étude, le R mesuré à T60 était également plus élevé en altitude qu'en plaine. Dans l'ensemble, nos résultats suggèrent que l'utilisation du glucose est plus élevée en altitude. De même, Katayama et al. (2010) ont montré que l'exercice à intensité relative modérée (50% de $\dot{V}O_2\text{max}$) en altitude modérée simulée (2000 m) augmente l'utilisation des glucides. Pour des altitudes plus élevées (4100 m), Lundby et Van Hall (2002) ont signalé que le métabolisme du glucose est le même qu'au niveau de la mer. L'altitude modérée testée dans notre étude (c'est-à-dire 2150 mètres) a peut-être été associée à des niveaux significatifs de stress cellulaire hypoxique et à une utilisation accrue des fibres glycolytiques pendant l'exercice - ce qui entraîne un passage de substrat de l'oxydation des lipides à l'oxydation des glucides. Pendant l'exercice en altitude, il semble qu'une glycémie stable ne puisse pas être maintenue par l'oxydation des lipides.

Notre approche métabolomique a évalué les trois principales voies métaboliques. Les profils métaboliques des participants ont également démontré que les voies protéiques étaient impliquées dans l'exercice en altitude mais pas en plaine bien que nous n'ayons pas pu démontrer une libération accrue de la créatine kinase en altitude. En plaine, Bergström et al. (1985) ont constaté que les concentrations musculaires en AAR étaient les mêmes avant et après l'exercice à 50-70% de $\dot{V}O_2\text{max}$. En altitude, nos résultats concordent avec le rapport de Bigard et al. (1993) selon lequel les séances quotidiennes répétées d'exercices de longue durée ont provoqué une altération significative des acides aminés plasmatiques. Les niveaux plasmatiques inférieurs de AAR, de glutamine et d'alanine après l'exercice en altitude suggèrent qu'une protéolyse améliorée et / ou des suppléments de substrats énergétiques sont nécessaires pour maintenir la glycémie (Levin et al. 1983). Shimizu et al. (2011) ont montré que la supplémentation en AAR a un effet positif modéré mais utile sur la fatigue lors du

trekking à 2750 m. En outre, il a été suggéré que la diminution de la concentration plasmatique de AAR pourrait être un des facteurs causant la fatigue pendant l'exercice prolongé (Parry-Billings et al. 1990). Les avantages potentiels de la supplémentation alimentaire en AAR sur l'amélioration des performances en altitude modérée justifient une recherche plus approfondie.

4. Conclusion

Nos résultats ont démontré qu'à une intensité d'exercice similaire, l'utilisation des substrats pendant l'exercice d'endurance diffèrait entre la plaine et l'altitude modérée. La réponse métabolique à l'exercice a été étudiée par spectroscopie ^1H RMN dans les échantillons de plasma sanguin. Il semble que les AAR aient été utilisés pour maintenir la glycémie pendant les exercices d'endurance en altitude modérée. D'autres études devraient déterminer si la supplémentation en glucose et / ou en AAR pourrait empêcher la chute de la glycémie pendant l'exercice à une altitude modérée et protéger les réserves en AAR. Compte tenu de nos résultats obtenus sur des échantillons prélevés de façon invasive (plasma sanguin), nous sommes intéressés à l'utilisation d'autres échantillons obtenus de façon moins invasive, comme les urines, pour déterminer les adaptations métaboliques humaines à l'exercice et / ou à l'altitude.

IV. Effet d'un exercice jusqu'à épuisement en moyenne altitude (2150m) sur le métabolome plasmatique et urinaire analysé par ^1H RMN

1. Introduction

L'étude précédente suggère une utilisation accrue des glucides lors d'un exercice d'endurance en altitude comparé à un exercice à même intensité relative en plaine. De plus, afin d'essayer de maintenir une glycémie stable, l'utilisation des AAR, de la glutamine et de l'alanine semble plus importante en altitude (Messier et al. 2017). Dans cette deuxième partie, nous avons étudié l'effet d'un exercice d'endurance jusqu'à l'épuisement, afin de se rapprocher des conditions de pratique d'une course d'endurance en altitude. En effet, les courses se déroulent souvent en deux phases une phase d'endurance où l'intensité d'effort est comprise entre le premier et le deuxième seuil ventilatoire. Puis une deuxième phase que l'on peut appeler le finish où l'on effectue un sprint de quelques minutes jusqu'à atteindre la ligne d'arrivée, où l'intensité est proche de sa VO_2max .

Les résultats précédents obtenus dans les plasmas sont encourageants pour la poursuite de la compréhension des mécanismes liés à l'adaptation à l'altitude. Toutefois, la collecte relativement invasive d'échantillons de sang peut être un obstacle lors d'études chez l'Homme d'autant plus en situation réelle de compétition. Alors, il est possible d'utiliser des échantillons obtenus de façon non-invasive comme l'urine.

L'urine élaborée dans le rein par des mécanismes complexes de sécrétion, d'excrétion et de réabsorption est un moyen d'élimination de nombreux catabolites hydrosolubles et surtout de maintien des grands équilibres hydro-électriques et acido-basiques. Il est clair que l'exercice physique met largement en jeu ces équilibres (sudation, production de lactate, par exemple). L'urine est un liquide biologique dont le contenu est révélateur des mécanismes mis en jeu lors des adaptations biochimiques à l'exercice et à fortiori, lors d'un exercice en altitude. En effet, l'urine contient les métabolites provenant des tissus proximaux et du sang perfusant les organes. De plus, l'urine est relativement moins complexe que les autres liquides biologiques car elle ne contient que des molécules hydrosolubles donc pas de lipides et peu ou pas de protéines (Decramer et al. 2008). Sa composition dépend des mécanismes impliqués dans l'homéostasie, une propriété qui en fait une meilleure source de biomarqueurs que d'autres

liquides biologiques (Gao 2013). Les modifications qui peuvent intervenir dans le sang sont contrôlées par des mécanismes homéostatiques pour maintenir toutes les cellules dans un environnement stable. L'urine accumule et tolère de grands changements de concentration afin de ne pas causer de dommages à l'organisme. Les modulations de concentration sanguine de certains composés peuvent être retrouvées de façon amplifiée dans l'urine (Li 2015). Enfin, l'urine peut être collectée en grande quantité, facilement, en routine et chez tous les types de sujets (sportifs professionnels ou sujets présentant des pathologies). Elle permettrait donc de pouvoir observer l'effet de l'altitude sur les métabolismes pendant de longues périodes et ainsi de mieux comprendre les modulations métaboliques en altitude.

A ce jour, une seule étude a utilisé des échantillons urinaires pour étudier l'effet de l'altitude aiguë sur le métabolome humain (Lou et al, 2014). Cette étude a été réalisée chez des sujets exposés à de hautes altitudes (3 000 m puis 4 500 m) simulées dans une chambre hypoxique pendant 2 heures sans exercice physique. L'urine a été analysée par spectrométrie de masse. Les résultats montrent que l'altitude augmente les produits métaboliques des purines, la 1-méthyladénosine et surtout la carnitine et l'acétyl-carnitine libre signalant une modification des voies de production d'énergie ou encore du métabolisme des lipides. Ces résultats sont plus importants à 4 500 m qu'à 3 000 m (Lou et al. 2014). L'utilisation de la RMN pourrait être une bonne stratégie pour observer des modulations métaboliques dues à la moyenne l'altitude car bien que sa sensibilité soit moindre que la spectrométrie de masse, la RMN a l'avantage important de permettre une analyse non ciblée des profils métaboliques avec une meilleure répétabilité et reproductibilité ainsi qu'une puissance d'identification plus importante (Dumas et al. 2006; Bertram et al. 2007).

Le but principal de notre étude était de montrer que l'analyse du métabolome urinaire peut révéler au même titre que le métabolome plasmatique des profils métaboliques différents entre la plaine et l'altitude (2 150 m) après un exercice d'endurance jusqu'à l'épuisement. Il s'agissait également de mieux comprendre les effets d'une course jusqu'au finish en moyenne altitude sur les modulations métaboliques.

2. Résultats

Paramètres cardio-respiratoires :

Pour cette partie de l'étude nous avons choisi de garder l'ensemble des sujets afin d'avoir des modèles statistiques plus puissants. De ce fait, en plaine nous avons 26 sujets en plaine et 22 sujets en altitude.

L'analyse de l'exercice d'effort maximal incrémental montre que la $\dot{V}O_2$ max, la puissance maximale atteinte et la SpO₂ de fin d'exercice en altitude étaient inférieures à celles mesurées en plaine (45 ± 8 vs 52 ± 10 ml.min⁻¹.kg⁻¹ ; 370 ± 64 vs 398 ± 64 W ; 90 ± 4 vs $98 \pm 1\%$, $p < 0,05$, respectivement). A l'inverse, le QRmax atteint en altitude était supérieur à celui atteint en plaine, dans les deux conditions le R était supérieur à 1,1 ($1,25 \pm 0,06$ vs $1,15 \pm 0,04$, $p < 0,05$, respectivement).

Les valeurs de performance et les données cardiorespiratoires lors du test d'endurance sont présentées dans le tableau 6. Les valeurs entre 20 et 60 min ne sont pas les mêmes que dans l'article précédant car certains athlètes n'ont pas réalisé la partie jusqu'à épuisement, de ce fait ils ont été éliminés de l'étude. Durant la première partie du test d'endurance lorsque l'intensité est constante (entre la 20^{ème} et la 60^{ème} minute), la $\dot{V}O_2$, la puissance d'exercice, la SpO₂ et la FC sont significativement plus basses en altitude qu'en plaine ($p < 0,05$). Les intensités relatives d'exercice (exprimées en % de $\dot{V}O_2$ max mesuré pendant les tests d'effort maximal en plaine et en altitude) étaient identiques. Par contre, le $\dot{V}E / \dot{V}CO_2$ et le QR étaient significativement plus élevés en altitude qu'en plaine. Le $\dot{V}E$ et le $\dot{V}E_{max}$ étaient similaires en altitude et en plaine. A l'épuisement, la $\dot{V}O_2$, la puissance, le $\dot{V}E / \dot{V}CO_2$, le petCO₂ et la SpO₂ étaient plus importants en plaine qu'en altitude. A contrario, l'intensité relative d'exercice et le QR atteint à l'épuisement étaient plus élevés en altitude qu'en plaine. La puissance maximale atteinte et le nombre de paliers étaient les mêmes en plaine et en altitude. D'autre part, la température de l'air lors des tests en plaine était plus élevée que la température en altitude.

Tableau 6 : Paramètres cardio-respiratoires et de performance lors du test d'endurance

	Moyenne entre 20 et 60 min		A l'épuisement	
	Plaine n = 26	Altitude n = 22	Plaine n = 26	Altitude n = 22
$\dot{V}O_2$ (ml.min ⁻¹ .kg ⁻¹)	35 ± 7	30* ± 6	46 ± 9	41* ± 7
VO ₂ max (%)	66 ± 7	67 ± 6	87 ± 7	91* ± 4
Puissance développée (Watts)	198 ± 36	177* ± 35	333 ± 61	307 ± 62
$\dot{V}E$ (L.min-1)	69 ± 12	71 ± 11	131 ± 32	145 ± 28
$\dot{V}E/VCO_2$	29 ± 4	32* ± 4	34 ± 4	38* ± 5
Pet CO ₂ (mmHg)	41 ± 4	36 *± 4	36 ± 4	31* ± 4
SpO ₂ (%)	99 ± 1	93* ± 2	98 ± 2	91* ± 4
FC (bpm)	141 ± 14	131* ± 14	173 ± 13	169 ± 13
QR	0.91 ± 0.06	0.97* ± 0.05	1.09 ± 0.10	1.21* ± 0.09
Nombres de paliers	/		9 ± 3	9 ± 2
Température (°C)	26 ± 1	21* ± 5	26 ± 1	21* ± 5

*Différence significative avec la plaine (p < 0.05)

Les valeurs de la concentration en hémoglobine et de l'hématocrite avant et après l'exercice d'endurance en plaine et en altitude sont observables dans le tableau 7. Que ce soit l'altitude ou l'exercice, aucun de ces facteurs n'a eu d'influence sur ces deux paramètres. La baisse du volume plasmatique avant et après l'effort en plaine est de 10 ± 8 % et en altitude est de 7 ± 11 %. Il n'y a pas de différence significative entre la baisse de volume plasmatique en plaine et en altitude (p>0.05).

Tableau 7 : Concentration d'hémoglobine (g.L⁻¹) et hématocrite (%) à T0 et à Tmax en plaine et en altitude

	Hémoglobine à T0	Hémoglobine à Tmax	Hématocrite à T0	Hématocrite à Tmax
Plaine	148 ± 13	156 ± 11	44 ± 4	46 ± 3
Altitude	148 ± 13	153 ± 13	43 ± 4	45 ± 4

Profils métabolomiques plasmatiques

Afin de mettre en avant l'homogénéité de nos données plasmatiques avant effort, nous avons tout d'abord calculé un modèle ACP avec les échantillons plasmatiques avant effort en plaine et en altitude. Comme pour l'étude précédente, un échantillon en altitude avait clairement des valeurs aberrantes. Ce participant avait un régime alimentaire particulier, comprenant une forte proportion d'aliments contenant de l'huile (comme les olives, les noisettes et les noix). Ce participant a été exclu des analyses ultérieures. La figure 30 représente l'ACP appliquée aux données plasmatiques avant les tests d'endurance (T0) en plaine et en altitude sans le sujet ayant un plasma différent des autres sujets. L'ACP a montré l'homogénéité des profils métaboliques des sujets avant le test d'endurance en plaine et en altitude car tous les spectres se situaient dans l'ellipse des 95% de la distribution (T2 Hotelling) sans cas aberrant. Le modèle n'a pas pu discriminer les échantillons plaine-T0 et les échantillons altitude-T0.

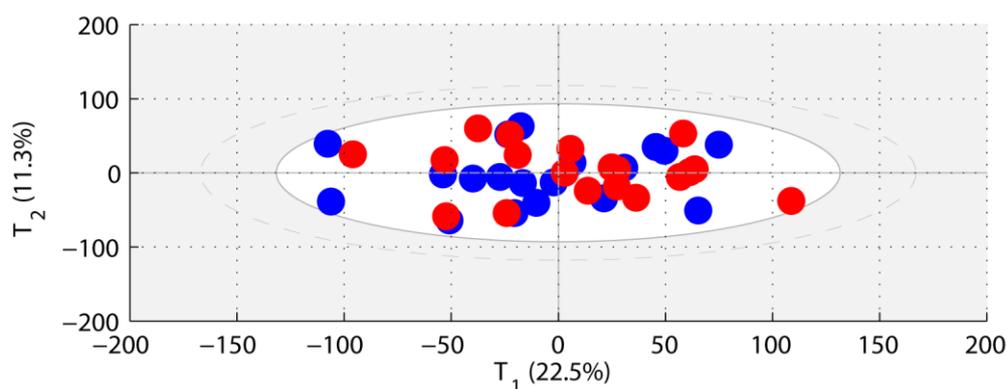


Figure 30 : Score plot du modèle ACP comparant les échantillons plasmatiques avant l'effort en plaine (bleu) et avant l'effort en altitude (rouge) sans le spectre aberrant du sujet éliminé précédemment qui n'était pas dans l'ellipse des 95% du T2 Hotelling.

Les spectres obtenus avec les échantillons plasmatiques collectés avant effort (T0) et après effort jusqu'à épuisement en plaine (Tmax) ont été appariés avant le calcul de l'ACP. Le score plot de l'ACP montre que les spectres sont homogènes. En effet, ils sont situés dans l'ellipse des 95% du T2 Hotelling. De plus, les spectres obtenus à T0 et Tmax sont séparés (figure 31a). Le modèle OPLS comparant les échantillons en plaine T0 et Tmax montre une très nette séparation des échantillons avant et après l'effort (figure 31b). Le modèle OPLS affiche de bons paramètres statistiques (1 composante, $R^2Y=0,950$ et $Q^2Y=0,853$), et a été validé par le processus de permutation (figure 31c), car aucune des valeurs de Q^2T n'était supérieure à la valeur de Q^2Y obtenue avec les données non permutes. Le loading plot de la figure 31d indique les corrélations entre les régions spectrales et l'axe de prédiction. Les

régions spectrales avec une corrélation supérieure à $|0.5|$ sont listées dans le tableau 8, ainsi que les métabolites correspondants. Les métabolites qui augmentaient après l'effort en plaine étaient l'urée (5,78 ppm), le lactate (4,1 et 1,32 ppm), le glucose (entre 3 et 4 ppm), le glycérol (3,65 et 3,57 ppm), le citrate (2,68 ; 2,65 ; 2,55 et 2,52 ppm), le succinate (2,41 ppm), le pyruvate (2,37 ppm) et le 3-hydroxybutyrate (1,19 ppm). Les métabolites qui diminuaient après l'effort étaient principalement les lipides (4,29 ; 2,22 ; 1,30 et 0,9 ppm) et la glutamine (2,10 et 2,45 ppm).

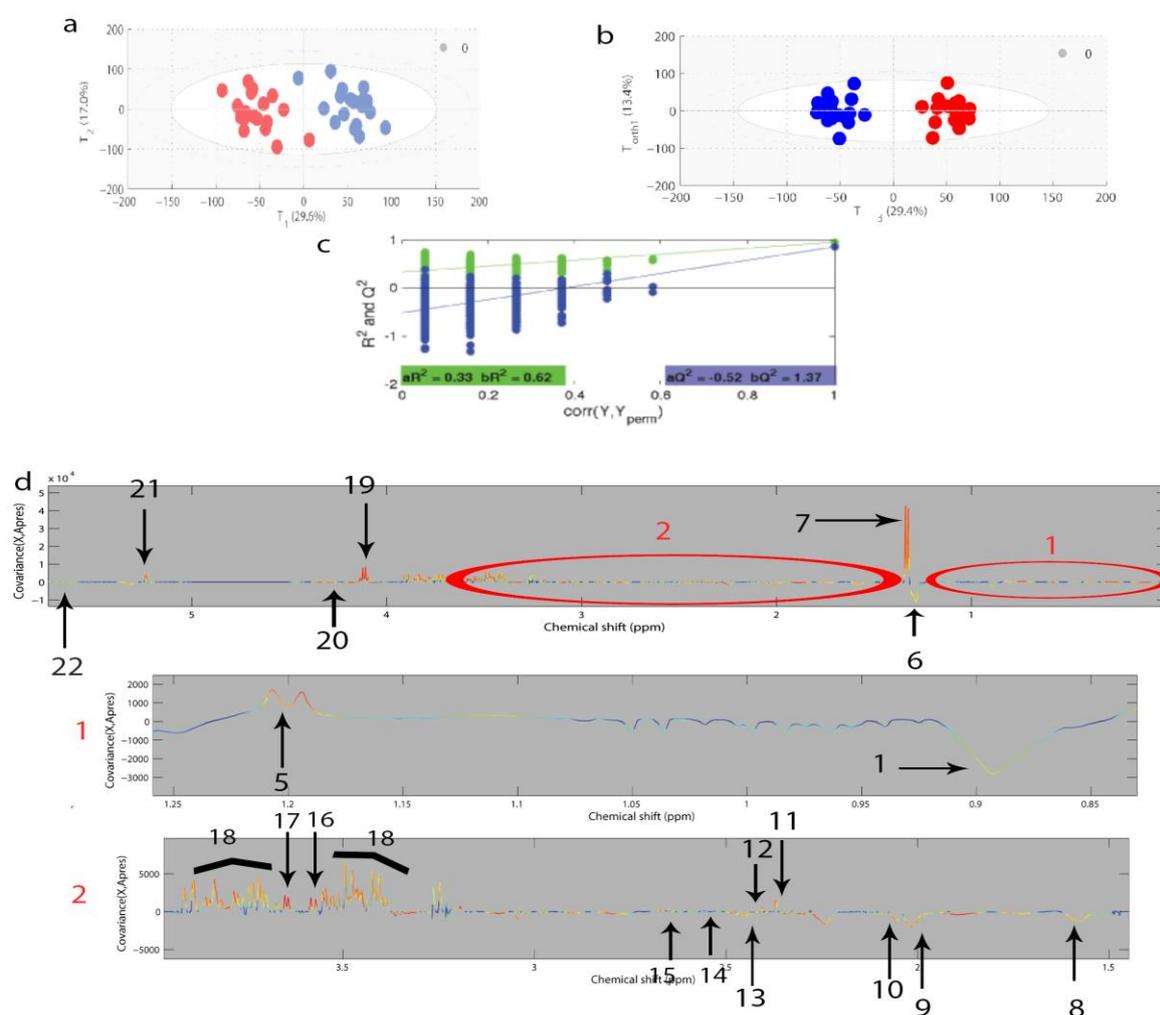


Figure 31 : Figures du profil métabolomique plasmatique entre T0 et Tmax en plaine a) Score plot du modèle ACP obtenu avec les spectres des plasmas prélevés en plaine avant le test d'effort jusqu'à épuisement (T0, bleu) et après le test d'effort jusqu'à épuisement (Tmax, rouge) b) Score plot du modèle OPLS obtenu lors de la comparaison des spectres à T0 (bleu) et à Tmax (rouge) c) Graphique du test de validation interne du modèle OPLS avec 999 permutations d) Loading plot de l'OPLS en plaine. Les variations des métabolites sont représentées dans la région spectrale de 0,5 à 5,5 ppm. Les signaux positifs correspondent aux métabolites dont les concentrations sont accrues dans le plasma après l'exercice (Tmax). À l'inverse, les signaux négatifs correspondent aux métabolites présents à des concentrations accrues dans le plasma avant l'exercice (T0). Les couleurs correspondent au coefficient de corrélation r . Les buckets sont légendés selon les attributions aux métabolites présentées dans le tableau 8.

Avant le calcul du modèle ACP des échantillons plasmatiques obtenus en altitude, T0 et Tmax en altitude ont été appariés. Le score plot du modèle en ACP montre que les spectres sont tous situés dans l'ellipse des 95% du T2 Hotelling. De plus, nous pouvons observer une séparation des échantillons T0 et Tmax en altitude (Figure 32a). La figure 32b représente le modèle OPLS discriminant les échantillons T0 et Tmax, ce modèle affiche de bon paramètres statistiques (2 composantes, $R^2Y=0,931$ et $Q^2Y=0,829$) et a été validé par le processus de permutation (figure 32c). Le loading plot de la figure 32d indique les corrélations entre les régions spectrales et l'axe de prédiction. Les régions spectrales avec une corrélation supérieure à $|0.5|$ sont listées dans le tableau 8, ainsi que les métabolites correspondants. Les métabolites qui augmentaient après l'effort étaient l'urée (5,78 ppm), le lactate (4,1 et 1,32 ppm), le glucose (entre 3 et 4 ppm), le glycérol (3,65 et 3,57 ppm), le citrate (2,68 ; 2,65 ; 2,55 et 2,52 ppm), le succinate (2,41 ppm), le pyruvate (2,37 ppm) et le 3-hydroxybutyrate (1,19 ppm). Les métabolites qui diminuaient après l'effort étaient principalement les lipides (4,29 ; 2,22 ; 1,30 et 0,9 ppm), la glutamine (2,10 et 2,45 ppm), valine (1,04 ppm) L-leucine (0,99 ppm) et L-isoleucine (0,95 ppm), ces trois derniers métabolites appartenant à la catégorie des AAR

Les modulations métaboliques entre T0 et Tmax en plaine sont similaires aux modulations observées entre T0 et T60 en plaine, sauf pour les glucides, le lactate, le 3-hydroxybutyrate, l'urée et le pyruvate qui sont tous plus élevés à Tmax qu'à T0 en plaine, alors que ces métabolites ne participaient pas à la discrimination des échantillons entre T0 et T60 en plaine.

Les modulations métaboliques entre T0 et Tmax en altitude sont similaires aux modulations observées entre T0 et T60 en ce qui concerne les acides gras, le glycerol, la glutamine et les AAR qui diminuent entre T0 et T60 mais aussi entre T0 et Tmax. En revanche la baisse de glucose plasmatique entre T0 et T60, n'est pas retrouvée entre T0 et Tmax. En effet entre T0 et Tmax il y a une augmentation du glucose. D'autre part le 3-hydroxybutyrate, l'urée et le pyruvate sont tous plus élevés à Tmax qu'à T0 en altitude. Ces métabolites ne participaient pas à la discrimination des échantillons entre T0 et T60 en plaine.

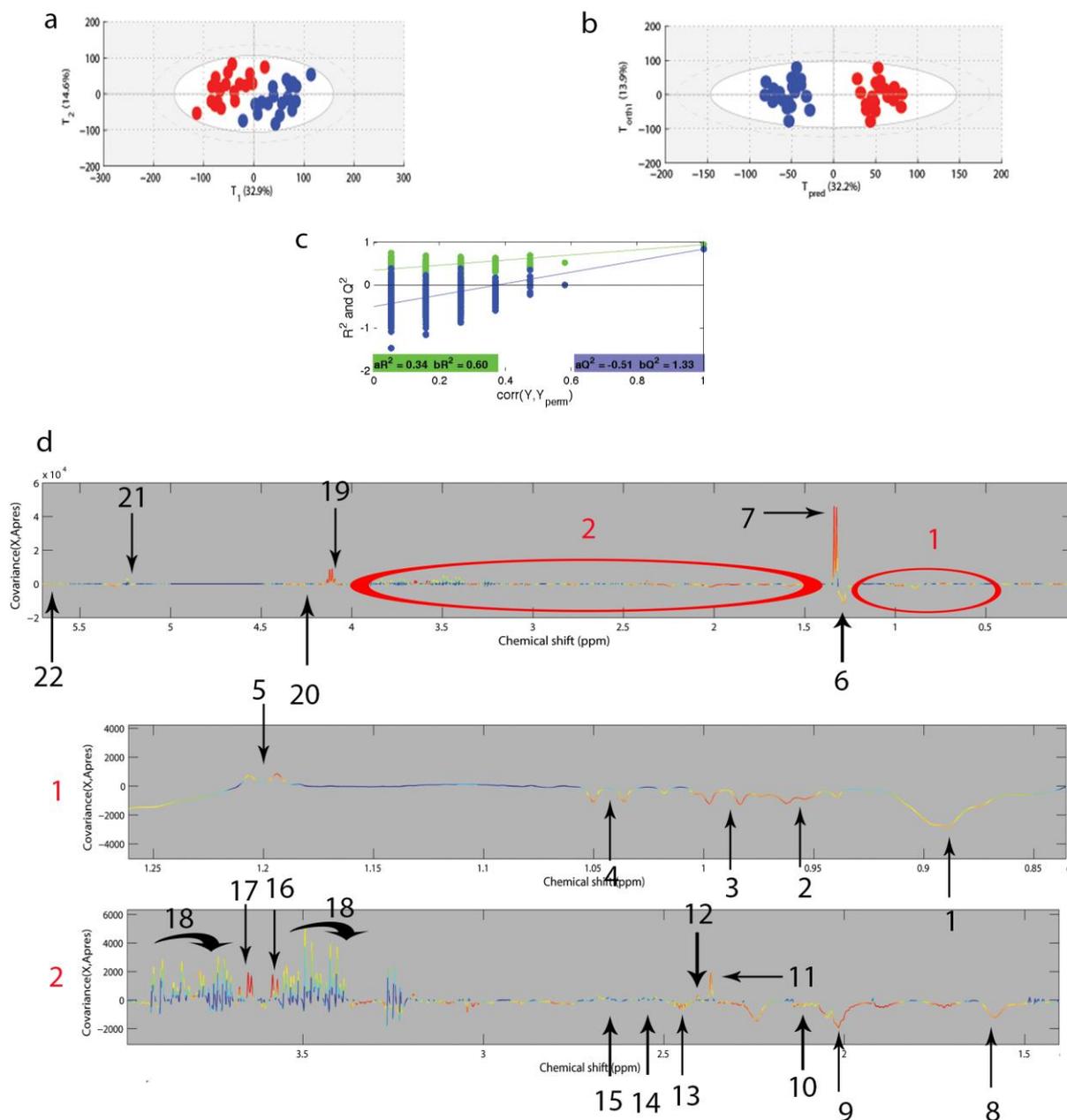


Figure 32 : Figures du profil métabolomique entre T0 et Tmax en altitude a) Score plot du modèle ACP obtenu avec les spectres des plasmas prélevés en altitude avant le test d'effort jusqu'à épuisement (T0, bleu) et après de test d'effort jusqu'à épuisement (Tmax, rouge) b) Score plot du modèle OPLS obtenu lors de la comparaison des spectres à T0 (bleu) et à Tmax (rouge) c) Graphique du test de validation interne du modèle OPLS avec 999 permutations d) Loading plot de l'OPLS en altitude. Les variations des métabolites sont représentées dans la région spectrale de 0,5 à 5,5 ppm. Les signaux positifs correspondent aux métabolites dont les concentrations sont accrues dans le plasma après l'exercice (Tmax). À l'inverse, les signaux négatifs correspondent aux métabolites présents à des concentrations accrues dans le plasma avant l'exercice (T0). Les couleurs correspondent au coefficient de corrélation r. Les buckets sont légendés selon les attributions aux métabolites présentées dans le tableau 8.

Tableau 8 : Liste des résonances dont la valeur absolue du coefficient de corrélation r est supérieure à 0,5 sur le loading plot du modèle OPLS comparant les plasmas T0 et Tmax en plaine et en altitude. Attribution des métabolites et légendes correspondant dans le loading plot.

Déplacements chimiques (ppm)	Métabolites	T0 Vs Tmax		Légendes
		r altitude	r plaine	
0,9	méthyl (CH3) des acides gras des lipides	-0,55	-0,53	1
0,95	L isoleucine	-0,80	0,00	2
0,99	L-leucine	-0,80	0,00	3
1,04	Valine	-0,80	0,00	4
1,19	3-hydroxybutyrate	0,80	0,80	5
1,28	CH ₂ acides gras	-0,55	-0,60	6
1,32	Lactate	0,85	0,80	7
1,57	CH ₂ acides gras	-0,55	-0,60	8
2,01	Acide Gras	-0,50	-0,65	9
2,09	Glutamine	-0,50	-0,60	10
2,37	Pyruvate	0,75	0,70	11
2,41	Succinate	0,75	0,70	12
2,45	Glutamine	-0,65	-0,60	13
2,52 _ 2.55	Citrate	0,60	0,60	14
2,65 _ 2.68	Citrate	0,40	0,60	15
3,57	Glycérol	0,90	0,90	16
3,65	Glycérol	0,90	0,90	17
3 _ 4	Glucose	0,60	0,70	18
4,1	Lactate	0,85	0,85	19
4,29	Acides gras	-0,55	-0,70	20
5,23	Glucose	0,60	0,75	21
5,78	Urée	0,50	0,60	22

Profils métabolomiques urinaires :

La figure 33 représente l'ACP appliquée sur les données urinaires obtenues sur les échantillons d'urine recueillis avant l'effort en plaine et en altitude. L'ACP a montré l'homogénéité des profils métaboliques des sujets avant le test d'endurance en plaine et en altitude car tous les spectres se situaient dans l'ellipse des 95% de la distribution (T2 Hotelling) sans cas aberrants (Figure 33).

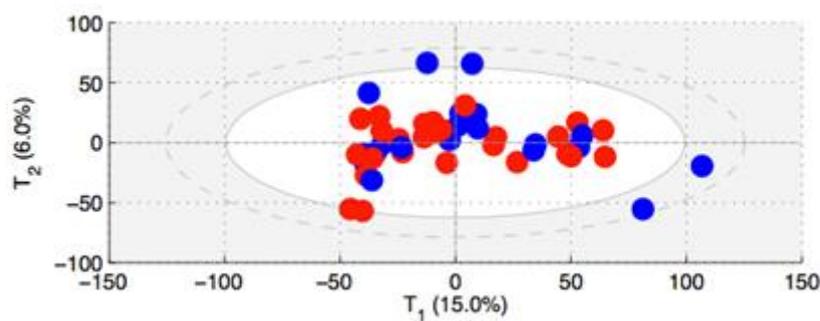


Figure 33 : Score plot du modèle ACP comparant les échantillons urinaires avant l'effort en plaine (bleu) et avant l'effort en altitude (rouge).

Les spectres obtenus avec les échantillons collectés avant l'effort en plaine et après l'effort en plaine ont été appariés pour calculer une ACP. Le score plot de ce modèle (Figure 34) montre que 4 spectres se situaient en dehors de l'ellipse des 95% de la distribution de T2 d'Hotelling. Ce sont donc des spectres aberrants dont les valeurs pourraient influencer les modèles ; de ce fait nous avons supprimé ces 4 échantillons.

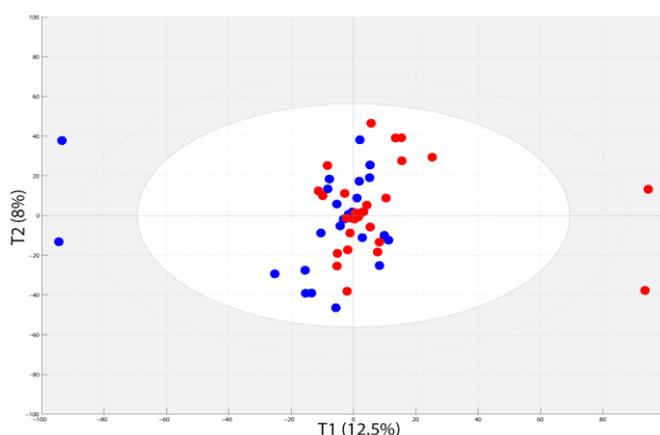


Figure 34 : Score plot du modèle ACP comparant les urines avant l'effort (bleu) et après l'effort en plaine (rouge). Quatre spectres sortent de l'ellipse des 95% du T2 d'Hotelling.

Nous avons donc choisi de calculer un deuxième modèle sans ces 4 spectres. L'ACP montrait que tous les spectres étaient dans l'ellipse des 95% du T2 Hotelling, mais ne permet pas de discriminer les échantillons urinaires avant et après effort (figure 35a). La figure 35b qui représente le score plot du modèle OPLS montre que les échantillons urinaires avant et après l'effort en plaine sont clairement séparés. Le modèle OPLS affiche de bons paramètres statistiques (2 composantes, $R^2Y=0,945$ et $Q^2Y=0,422$), ce modèle a été validé par le processus de permutation (Figure 35c), car aucune des valeurs de Q^2T n'était supérieure à la valeur de Q^2Y obtenues avec les données non permutoées. Les régions spectrales (loading plot Figure 35d) avec une corrélation supérieure à $|0.4|$ sont listées dans le tableau 9, ainsi que les

métabolites correspondants. Les métabolites qui augmentaient après l'effort en plaine étaient la créatinine (3.04 et 4,07 ppm) et 1 résonance non identifiée à 1,20 ppm. Les métabolites qui diminuaient après l'effort étaient principalement l'hippurate (7,55 ; 7.64 et 7.84 ppm), la glycine (3,57 ppm), la diméthylglycine (2,93 ppm) et le citrate (2,53 ; 2,56 ; 2,69 ; et 2,72 ppm).

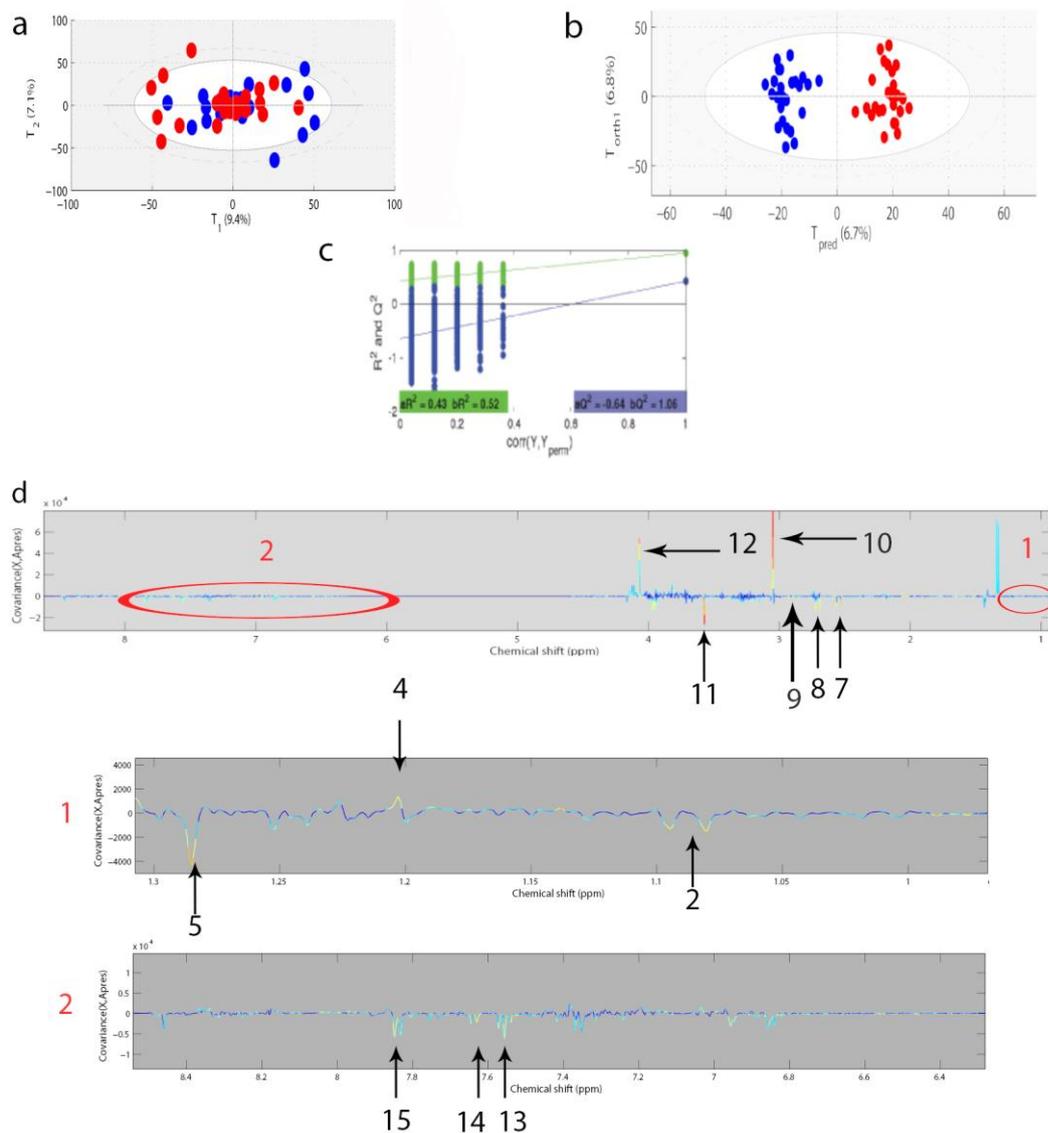


Figure 35 : Figures du profil métabolomique entre U0 et Umax en plaine a) Score plot du modèle ACP obtenu avec les spectres d'urines prélevées en plaine avant le test d'effort jusqu'à épuisement (U0, bleu) et après de test d'effort jusqu'à épuisement (Umax, rouge) b) Score plot du modèle OPLS obtenu lors de la comparaison des spectres à U0 (bleu) et à Umax (rouge) c) Graphique du test de validation interne du modèle OPLS avec 999 permutations. d) Loading plot de l'OPLS en plaine. Les variations des métabolites sont représentées dans la région spectrale de 0,5 à 5,5 ppm. Les signaux positifs correspondent aux métabolites dont les concentrations sont accrues dans les urines après l'exercice (Umax). À l'inverse, les signaux négatifs correspondent aux métabolites présents à des concentrations accrues dans les urines avant l'exercice (U0). Les couleurs correspondent au coefficient de corrélation r. Les buckets sont légendés selon les attributions aux métabolites présentées dans le tableau 9

Les spectres obtenus avec l'urine collectée avant et après l'effort en altitude ont été appariés pour calculer un modèle en ACP. Ce modèle montre 2 spectres sortant de l'ellipse des 95% du T2 Hotelling (Figure 36).

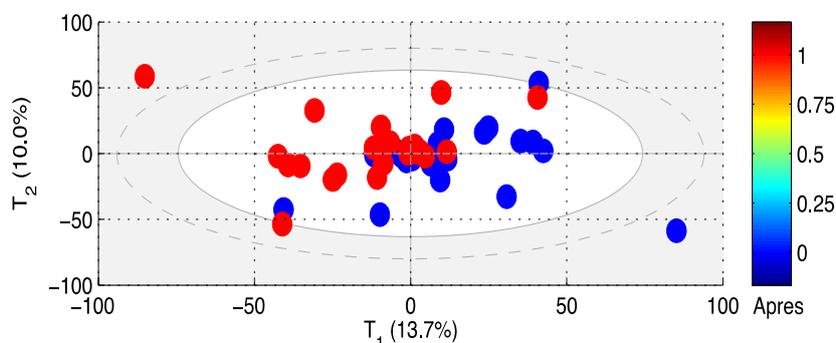


Figure 36 : Score plot du modèle ACP comparant les urines avant l'effort (bleu) et après l'effort en altitude (rouge). Deux spectres sortent de l'ellipse des 95% du T2 d'Hotelling

Après suppression de ces deux spectres, le modèle en ACP démontre l'homogénéité des échantillons. En effet tous les spectres se situent dans l'ellipse des 95% du T2 Hotelling et ne montrent pas de séparation entre les spectres obtenus sur les échantillons avant et après l'effort (figure 37a). Le modèle OPLS (figure 37b) affiche de bons paramètres statistiques (2 composantes, $R^2Y = 0,948$ et $Q^2Y = 0,475$) et a été validé par le processus de permutation (figure 37c). Le loading plot de la figure 37d indique une corrélation entre les régions spectrales et l'axe de prédiction. Les régions spectrales avec une corrélation supérieure à $|0.4|$ sont listées dans le tableau 9, ainsi que leurs métabolites correspondants. Ces régions correspondent principalement à la créatinine (3,04 et 4,07 ppm), 3-Hydroxymethylglutarate (1,31 ppm), 3-hydroxybutyrate (1,18 ppm), 3 hydroxyisobutyrate (1,08 ppm), au 2-oxoisocaproate (0,94 ppm) et 1 résonance non identifiée à 1,20 ppm. Ces derniers augmentent après effort contrairement à l'hippurate (7,55 ; 7.64 et 7.84 ppm), à la glycine (3,57 ppm), à la dimethylglycine (2,93 ppm) et au citrate (2,53 ; 2,56 ; 2,69 ; et 2,72 ppm) qui sont moins élevés après l'effort qu'avant l'effort (tableau 9).

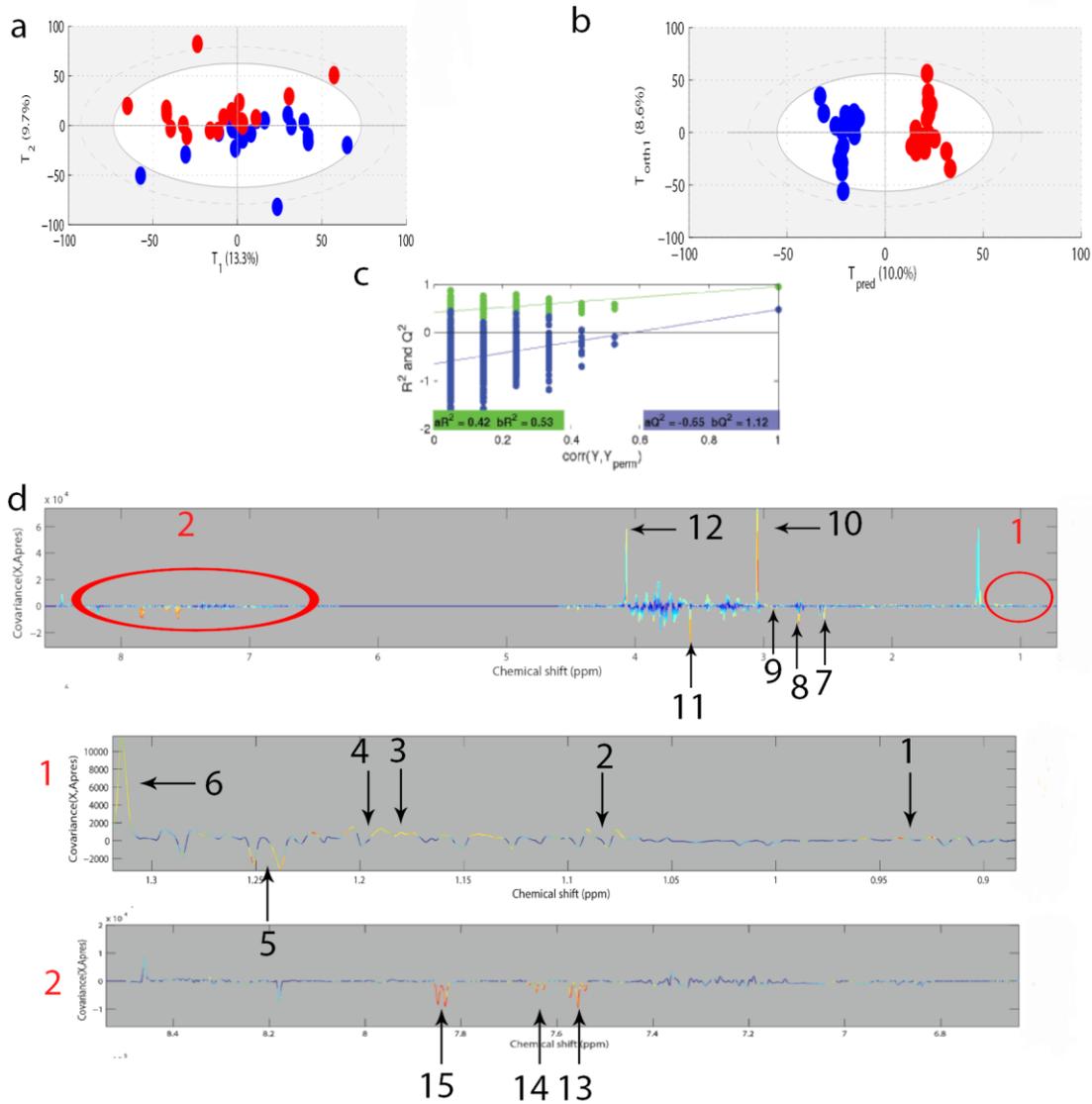


Figure 37 : Figures du profil métabolomique entre U0 et Umax en altitude a) Score plot du modèle ACP obtenu avec les spectres d'urines prélevées en altitude avant le test d'effort jusqu'à épuisement (U0, bleu) et après le test d'effort jusqu'à épuisement (Umax, rouge) b) Score plot du modèle OPLS obtenu lors de la comparaison des spectres à U0 (bleu) et à Umax (rouge) c) Graphique du test de validation interne du modèle OPLS avec 999 permutations. d) Loading plot de l'OPLS en altitude. Les variations des métabolites sont représentées dans la région spectrale de 0,5 à 5,5 ppm. Les signaux positifs correspondent aux métabolites dont les concentrations sont accrues dans les urines après l'exercice (Umax). À l'inverse, les signaux négatifs correspondent aux métabolites présents à des concentrations accrues dans les urines avant l'exercice (U0). Les couleurs correspondent au coefficient de corrélation r . Les buckets sont légendés selon les attributions aux métabolites présentées dans le tableau 9.

Tableau 9 : Liste des résonances dont la valeur absolue du coefficient de corrélation r est supérieure à 0,4 sur le loading plot du modèle OPLS comparant les urines U0 et Umax en plaine et en altitude. Attribution des métabolites et légendes dans le loading plot.

Déplacements chimiques (ppm)	Métabolites	U0 vs Umax		Légende
		r Plaine	r Altitude	
7,84	Hippurate	-0,45	-0,65	15
7,64	Hippurate	-0,45	-0,55	14
7,55	Hippurate	-0,5	-0,6	13
4,07	Créatinine	0,6	0,4	12
3,57	Glycine	-0,8	-0,6	11
3,05	Créatinine	0,45	0,5	10
2,93	Diméthylglycine	-0,55	-0,6	9
2,72; 2,69	Citrate	-0,5	-0,65	8
2,56; 2,53	Citrate	-0,4	-0,5	7
1,31	3-Hydroxyméthylglutarique	0	0,4	6
1,28	Non déterminé	-0,5	-0,5	5
1,2	Non déterminé	0,5	0,5	4
1,18	3-Hydroxybutyrate	0	0,5	3
1,08	3 Hydroxyisobutyrate	-0,55	0,45	2
0,94	2-Oxoisocaproate	0	0,65	1

3. Discussion

Les objectifs de cette étude étaient multiples. Tout d'abord, il s'agissait d'observer si les réponses métaboliques étaient différentes lors d'un exercice d'endurance mené jusqu'à épuisement entre la plaine et l'altitude en utilisant la ¹H RMN. Ensuite, le but était de montrer que les résultats obtenus dans l'urine étaient suffisants pour comprendre les modulations métaboliques en altitude sans l'utilisation des plasmas.

Comme cela a déjà été décrit dans la littérature, la $\dot{V}O_2$ lors de la phase d'endurance de 60 minutes, la $\dot{V}O_{2peak}$, la puissance d'exercice à SV1, la SpO₂ lors des 60 minutes à SV1 et la SpO₂ en fin d'exercice étaient significativement plus faibles en altitude qu'en plaine (Gore et al. 1996; Gaston et al. 2016). Par contre, lors de l'effort d'endurance jusqu'à épuisement, le $\dot{V}E$ était plus important en altitude qu'en plaine. Que ce soit lors de l'exercice de 60 minutes à

SV1 ou après la phase d'épuisement, le QR était supérieur en altitude par rapport à la plaine, ce qui peut suggérer une plus grande consommation de glucose en altitude modérée. Ces résultats sont en accord avec l'étude de Katayama et al. (2010) qui rapportait aussi des valeurs plus élevées du QR lors de l'exercice en hypoxie modérée normobarique (simulant une altitude de 2 000 m).

Les FCmax atteintes en altitude sont inférieures à celles atteintes en plaine dans notre étude. La littérature montre qu'à 2 150 m, il n'y a pas de différence de FCmax entre l'altitude et la plaine que ce soit chez des athlètes ou des sédentaires (Gaston et al. 2016). En revanche, à 2 700 m, Peltonen et al. (2001) ont mesuré une faible mais significative diminution de FCmax. Dans notre étude, la température de l'air lors des exercices en plaine était de 26°C tandis que la température de l'air en altitude était de 21°C, ce qui a pu avoir un effet sur le statut hydrique des sujets et sur leur performance. En effet, il est largement connu que la déshydratation induite par l'exercice a un impact direct sur la performance en endurance (Sawka et al. 2012). En plaine, il est montré dans la littérature que la déshydratation affecte les fonctions cardiaques (Cheuvront et al. 2003; González-Alonso et al. 2008) et que ces altérations sont davantage marquées en situation de stress thermique (Cheuvront et al. 2010; González-Alonso et al. 1997). Si le remplacement de liquide est inadéquat, il y a une baisse du volume d'éjection systolique et du débit cardiaque, ce qui ferait fluctuer à la hausse les FC (Cheuvront et al. 2003). Ceci serait causé par une réduction du volume plasmatique, ce qui diminuerait le débit cardiaque (González-Alonso et al. 2008). Dans notre étude, la baisse du volume plasmatique, avant et après effort, est de $10 \pm 8\%$ en plaine et de $7 \pm 11\%$ en altitude. Il n'y a pas de différence statistiquement significative entre la plaine et l'altitude. De plus, les sujets pouvaient boire de l'eau toutes les 15 minutes afin de limiter la déshydratation due à l'effort physique. Il semble donc que la différence de FCmax ne soit pas due à la déshydratation.

La métabolomique dans les plasmas a permis de caractériser des profils métaboliques différents lors d'un exercice d'endurance de 60 minutes à SV1 effectué en plaine comparé à l'altitude en utilisant les plasmas (Messier et al. 2017). Ici, la question est de savoir si l'analyse des urines par ^1H RMN peut caractériser des différences de profils métaboliques entre la plaine et l'altitude lors d'un exercice en endurance jusqu'à épuisement. En 2014, Lou et al. ont mis en évidence des différences de profils métaboliques entre la plaine et l'altitude en utilisant la SM pour les urines. Toutefois, cette étude a été réalisée lors d'une simple exposition à l'altitude sans exercice. L'analyse de nos résultats a permis de mettre en

évidence des profils métaboliques RMN différents entre la plaine et l'altitude lors d'un exercice d'endurance jusqu'à épuisement, et ce dans les plasmas mais aussi dans les urines. Cela confirme donc que les voies d'approvisionnement en énergie métabolique diffèrent entre la plaine et l'altitude. Les principales différences observées entre les profils métaboliques obtenus en plaine et en altitude concernent les AAR. L'utilisation des lipides et des glucides paraît similaire lors de l'exercice d'endurance jusqu'à épuisement entre la plaine et l'altitude. Les AAR dans les plasmas en altitude étaient diminués, alors qu'à contrario, les produits de dégradation des AAR étaient augmentés dans les urines en altitude. Ces métabolites n'étaient pas discriminants dans le modèle OPLS calculé pour le test en plaine (Figure 38).

Il est bien connu que les lipides sont oxydés pendant un exercice d'endurance modéré (Brooks et Mercier 1994a; Horowitz et Klein 2000). Une augmentation de la teneur plasmatique en glycérol, comme dans notre étude, résulte de l'hydrolyse des triglycérides pour la libération d'acides gras libres qui seront oxydés pour fournir de l'énergie. Cette accumulation de glycérol qui est un substrat de la néoglucogenèse montre que cette dernière n'est pas mise en place ou bien peu efficace. Nos données n'ont révélé aucune différence entre la plaine et l'altitude sur le métabolisme lipidique. Ceci est en accord avec les données de la littérature suggérant qu'à des charges de travail relatives équivalentes (en pourcentage de $\dot{V}O_2\text{max}$), l'utilisation du substrat lipidique est inchangée en hypoxie aiguë (Lundby et Van Hall, 2002). Notre étude confirme donc par une analyse globale que le métabolisme lipidique est inchangé lors d'un exercice en endurance réalisé en altitude comparé à la plaine.

Dans notre précédente étude, nous avons montré que l'exercice de 60 minutes à SV1 provoquait une baisse de la glycémie en altitude mais pas en plaine (Messier et al. 2017). Pour se rapprocher des conditions de compétition, nous avons voulu étudier l'effet d'un exercice d'endurance jusqu'à épuisement. Nos résultats ont mis en évidence une augmentation du pyruvate et du lactate dans les plasmas en plaine et en altitude. Ceci suggère que l'effort jusqu'à épuisement induit une augmentation de la glycolyse et donc du flux de glucose pour produire l'énergie nécessaire à la poursuite de l'effort en plaine et en altitude. De plus, nous avons observé une augmentation du QR entre l'effort à SV1 et l'effort jusqu'à épuisement en plaine et en altitude ce qui montre que l'augmentation de l'effort se traduit par une augmentation de la production d'énergie par glycolyse. D'autre part, nos résultats montrent une augmentation du glucose plasmatique entre T0 et Tmax, ce qui pourrait être contradictoire avec l'augmentation de la glycolyse. Mais, il a été montré qu'après un sprint de 60 secondes sur ergocycle, la concentration de glucose peut être supérieure de 40 à 50% à

celle de repos (Wilmore et al. 2017). Il est bien connu que plus l'intensité de l'exercice augmente et plus la libération de catécholamines est importante, ce qui se traduit par une augmentation de la glycolyse hépatique et musculaire. La libération de glucose en quantité suffisante dans le sang ne permet pas pour autant aux cellules musculaires de subvenir à la demande énergétique ; en effet, il faut que le muscle puisse capter ce glucose. Dans notre étude, il semble donc que l'augmentation du glucose plasmatique à T_{max} soit due à un relargage de glucose par le foie qui dépasse l'utilisation des muscles.

D'autre part dans notre présente étude, nous avons observé, après l'effort en plaine et en altitude dans les plasmas, une augmentation du 3-hydroxybutyrate, corps cétonique produit lors d'une mobilisation élevée des acides gras libres. De plus, il a été montré une augmentation de l'excrétion du 3-hydroxybutyrate dans l'urine seulement après l'effort en altitude. L'augmentation de l'excrétion du 3-hydroxybutyrate dans l'urine peut se produire lorsque la production de corps cétoniques dépasse la capacité maximale d'utilisation des tissus périphériques ou lors d'un défaut de néoglucogenèse. De plus, les corps cétoniques sont produits de manière importante lors d'une hypoglycémie car la lipolyse et la bêta-oxydation se mettent en place, comme cela peut être le cas lors d'un effort en altitude (Messier et al, 2017). Au regard de ces résultats, l'utilisation des urines semble primordiale car elle permet d'observer l'excrétion de métabolites qui pourraient modifier l'homéostasie sanguine. Dans ce cas précis, l'utilisation de multi-compartiments biologiques (urines et plasmas) montre la cohérence des deux compartiments.

Concernant les contenus urinaires en citrate, ce métabolite du cycle de Krebs diminue dans l'urine après l'effort en plaine et en altitude. Il a été rapporté que son niveau urinaire peut diminuer lorsque la lactatémie augmente (Nicholson et al., 1985). Ces auteurs ont suggéré que l'acidose lactique provoque une acidose rénale tubulaire. Dans notre étude, il est possible que l'exercice jusqu'à épuisement ait provoqué une acidose lactique, comme le montre l'augmentation du lactate dans le plasma entre T₀ et T_{max} et finalement un dysfonctionnement de la fonction rénale. Les résultats obtenus dans l'urine lors des efforts en plaine et en altitude attestent de cette hypothèse. En effet, la diminution de glycine et d'hippurate après l'exercice ont tous deux été décrits comme des signes de dysfonctionnement rénal réversible (Bairaktari et al. 2002).

Les différences de résultats obtenues entre la plaine et l'altitude confortent les résultats obtenus dans notre précédente étude. En effet, les profils métaboliques des participants ont

démontré que les voies protéiques étaient impliquées dans l'exercice en altitude mais pas en plaine. L'exercice en altitude a provoqué une diminution des AAR dans les plasmas après l'effort et une augmentation de certains produits de la dégradation des AAR dans l'urine (3-hydroxyisobutyrate et 2-oxoisocaproate). Les produits de la dégradation de la leucine et de la valine (2-oxoisocaproate et 3-hydroxyisobutyrate, respectivement) augmentent dans les urines après l'effort mais pas ceux de la dégradation de l'isoleucine, suggérant que les trois AAR peuvent ne pas répondre uniformément à l'exercice. De plus, il a été montré en plaine que les concentrations de AAR musculaires étaient les mêmes avant et après un exercice à 50-70% de $\dot{V}O_2\text{max}$ (Bergström et al. 1985). En altitude, nous avons montré dans notre précédente étude qu'un exercice de 60 minutes à SV1 provoque une baisse de glycémie et que l'utilisation des AAR serait une stratégie pour limiter la baisse de cette dernière (Messier et al. 2017). Les niveaux plasmatiques inférieurs d'AAR après l'exercice en altitude suggèrent donc que des protéolyses améliorées et/ou des suppléments de substrats énergétiques sont nécessaires pour maintenir la glycémie (Levin et al. 1983). En outre, il a été suggéré que la diminution de la concentration plasmatique d'AAR est l'un des facteurs à l'origine de la fatigue pendant l'exercice prolongé (Parry-Billings et al. 1990). Toutefois, au regard des données de performance, cette augmentation de fatigue en altitude comparée à la plaine semble inappropriée. En effet, que ce soit en plaine ou en altitude, les sujets ont effectué le même nombre de paliers et les puissances maximales ainsi que le pourcentage de $\dot{V}O_2\text{max}$ atteints après l'incrémentation sont similaires. De ce fait, il semble que lors d'un effort d'endurance jusqu'à épuisement en l'altitude, l'utilisation accrue des AAR ne soit pas un facteur de fatigue mais plutôt une adaptation de l'organisme à l'altitude afin de faire face au manque d' O_2 disponible.

Notre étude est une étude multi-compartimentale, la cohérence des deux compartiments permet de connaître l'état métabolique lors d'un exercice en altitude comparé à la plaine. Nos résultats ont montré la cohérence entre les deux compartiments, il est donc possible d'explorer les mécanismes mis en jeu par l'altitude à l'aide des urines seulement. En effet, l'urine assure l'épuration du sang ainsi que le maintien de l'homéostasie au sein de l'organisme. Les métabolites produits en excès et qui ne peuvent être utilisés par l'organisme sont excrétés dans l'urine. L'utilisation de l'urine semble donc une bonne stratégie non invasive pour comprendre les modulations métaboliques induites par un exercice d'endurance jusqu'à épuisement en l'altitude comparé à la plaine. En effet, avec l'urine, nous avons mis en avant une utilisation accrue des AAR en altitude par rapport à la plaine, ce qui confirme les analyses

plasmatiques. D'autant plus, ceci est notre principal résultat qui discrimine un exercice d'endurance jusqu'à épuisement entre la plaine et l'altitude. D'autre part, grâce à l'analyse des échantillons urinaires, nous avons mis en avant un dysfonctionnement rénal en plaine et en altitude marqué par la diminution des contenus en hippurate et en glycine, ce qui ne pouvait être détecté avec les plasmas. De la même manière, grâce aux urines, nous avons mis en avant en altitude une augmentation du 3-hydroxybutyrate après l'effort d'endurance jusqu'à épuisement. Ceci montre soit une hypoglycémie ou un défaut de la néoglucogénèse en altitude. Tous ces résultats nous confortent dans l'utilisation de l'urine pour l'évaluation de l'impact de l'exercice en altitude.

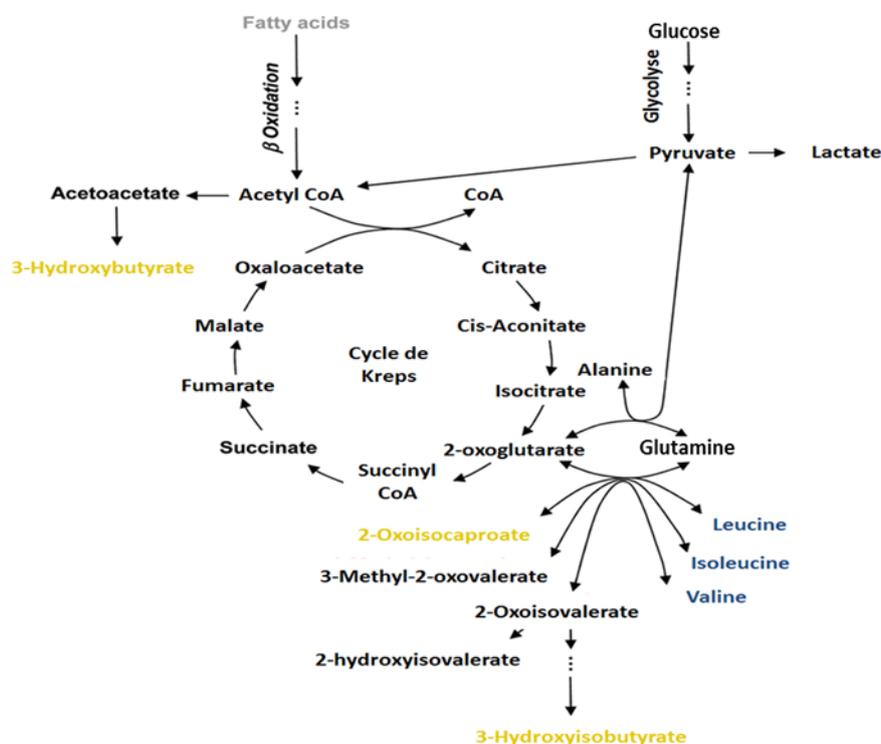


Figure 38 Voies d'utilisation des glucides, des lipides et des acides aminés. En noir pas de modification entre l'exercice effectué en plaine et en altitude. En bleu diminution dans les plasmas après effort en altitude. En jaune augmentation dans les urines après effort en altitude.

4. Conclusion

Les résultats obtenus dans cette étude démontrent que lors d'un exercice d'endurance jusqu'à épuisement, les modulations métaboliques ne sont pas les mêmes lorsque l'exercice est effectué en plaine et en altitude. La métabolomique par RMN appliquée à deux compartiments, le plasma et l'urine a mis en avant une utilisation plus importante des AAR en altitude qu'en plaine. Les résultats obtenus lors de l'exercice jusqu'à épuisement confirment les résultats obtenus lors de l'étude de l'analyse métabolomique d'un exercice de 60 minutes à SV1 en altitude. Les différences de profils métabolomiques entre l'exercice de 60 minutes à SV1 et l'exercice jusqu'à épuisement sont dues en plaine et en altitude à l'augmentation de l'intensité de l'exercice. En effet, une augmentation de la glycolyse pour produire l'énergie est nécessaire à la poursuite de l'effort en plaine et en altitude lorsque l'intensité de l'exercice augmente. Enfin, notre étude montre que les modulations métaboliques induites par l'altitude auraient pu être révélées en utilisant les spectres de l'urine seulement. En effet, les résultats obtenus en utilisant les échantillons d'urine confirment ceux obtenus avec les plasmas. Cette étude souligne donc la possibilité d'utiliser uniquement des prélèvements urinaires obtenus non invasivement, pour étudier les modifications métaboliques lors d'un exercice en altitude.

V. Application de ACCPS pour l'analyse concomitante des données appariée de ^1H RMN et les variables physiologiques obtenues lors des exercices effectués en plaine et en altitude

1. Introduction

Le fonctionnement de l'organisme résulte de l'inter relation entre plusieurs systèmes (cardio-respiratoires, vasculaires, métaboliques). Afin d'appréhender au mieux son fonctionnement, il est donc important d'étudier l'interrelation des différents systèmes. Par exemple, lors d'un exercice d'endurance, la production d'énergie nécessite un apport en O_2 suffisant qui est lui-même conditionné par le système cardio-respiratoire. Dans les deux premières parties de notre travail, nous avons étudié séparément les modifications des données cardio-respiratoires et les modifications métaboliques induites par l'exercice d'endurance en altitude. Afin de mieux comprendre les effets de l'altitude sur l'organisme, il semble judicieux d'utiliser des méthodes statistiques qui permettent de trouver des corrélations entre les données cardio-respiratoires et de performance et les données plasmatiques métaboliques obtenues par ^1H RMN.

La méthode ACCPS (analyse en composantes communes et poids spécifiques) est une méthode d'analyse de données multi-tableaux, parfois appelée ComDim. La méthode ACCPS est une méthode non supervisée utilisée pour analyser simultanément des blocs de données mesurées avec différentes techniques (cardio-respiratoire, biochimique, métabolique par exemple) sur les mêmes sujets. Les variables latentes calculées avec ACCPS résument la variabilité commune des blocs de données. L'analyse des composantes communes et du poids spécifique a d'abord été introduite dans le cadre de l'analyse sensorielle (Qannari et al. 2000) et peu de temps après, elle a été utilisée dans différents contextes tels que des mesures instrumentales (Nielsen et al. 2001), des images multivariées (Courcoux et al. 2002)... L'acronyme «ComDim» qui signifie «Dimensions communes» a d'abord été utilisé dans l'étude de Nielsen et al (2001) et dans un programme Matlab disponible dans l'environnement SAISIR (Cordella et Bertrand 2014).

A ce jour, aucune étude en science du sport n'a utilisé cette méthode d'analyse statistique pour trouver des corrélations entre des blocs de données métaboliques et des données cardio-respiratoires. C'est pourquoi, l'objectif de ce travail est d'utiliser cette méthode afin de comprendre quels sont les variabilités communes entre les paramètres cardiorespiratoires et

les données métabolomiques obtenues lors d'un exercice d'endurance jusqu'à épuisement en plaine et en altitude modérée. *In fine*, le but est de mieux comprendre les conséquences de l'exercice en altitude modérée sur l'organisme.

2. Méthodes

Pour chaque sujet, il est indispensable d'avoir les prélèvements sanguins à T0, T60 et Tmax en plaine mais aussi en altitude. De plus, il est indispensable d'obtenir les données cardiorespiratoires et de performance pour chaque sujet. De ce fait, pour l'analyse en ACCPS, nous disposons de 19 sujets avec tous ces paramètres communs. Ainsi, avant les analyses, les données à T0, T60 et Tmax pour chaque sujet ont été appariées en plaine mais aussi en altitude.

Tout d'abord, nous avons analysé les données des échantillons plasmatiques en calculant un modèle ACP afin de séparer les échantillons entre T0, T60 et Tmax plaine et altitude. Ensuite, nous avons calculé un modèle ACP à l'aide des données cardio-respiratoires et de performance afin de séparer les données obtenues entre la plaine et l'altitude. Et pour finir, nous avons utilisé la méthode ACCPS afin de mettre en avant les variabilités communes des blocs de données existantes entre les données plasmatiques obtenues par ^1H RMN et les données cardio-respiratoires et de performance.

Le modèle ACCPS montre les variables des deux blocs participant au calcul des composantes communes. Par conséquent, une hypothèse peut être établie sur la relation possible entre les paramètres physiologiques mesurés et les variations des métabolites évaluées avec la ^1H RMN dans le plasma.

3. Résultats

La figure 39 représente le score plot du modèle ACP calculé à l'aide des spectres plasmatiques T0, T60 et Tmax obtenus en plaine et en altitude. Le score plot ne permet pas de séparer les échantillons en plaine des échantillons en altitude. Par contre, les échantillons T0, T60 et Tmax ont tendance à se regrouper.

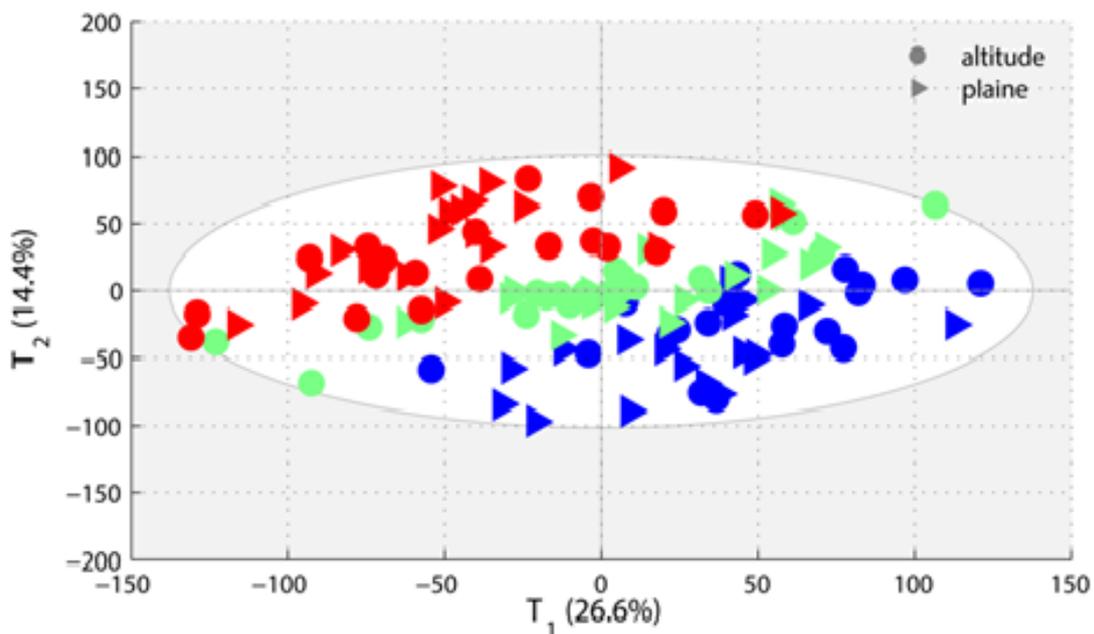


Figure 39 Score plot du modèle ACP calculé à l'aide des spectres plasmatiques T0 (rouge) T60 (vert) et Tmax (bleu). Ronds et les triangles correspondent respectivement aux spectres obtenus en altitude et en plaine.

La figure 40 représente le score plot du modèle ACP calculé à l'aide des données cardio-respiratoires et de performance. Le score plot montre une très nette séparation entre les données obtenues entre T0, T60 et Tmax, mais surtout une séparation entre les données obtenues en plaine et en altitude.

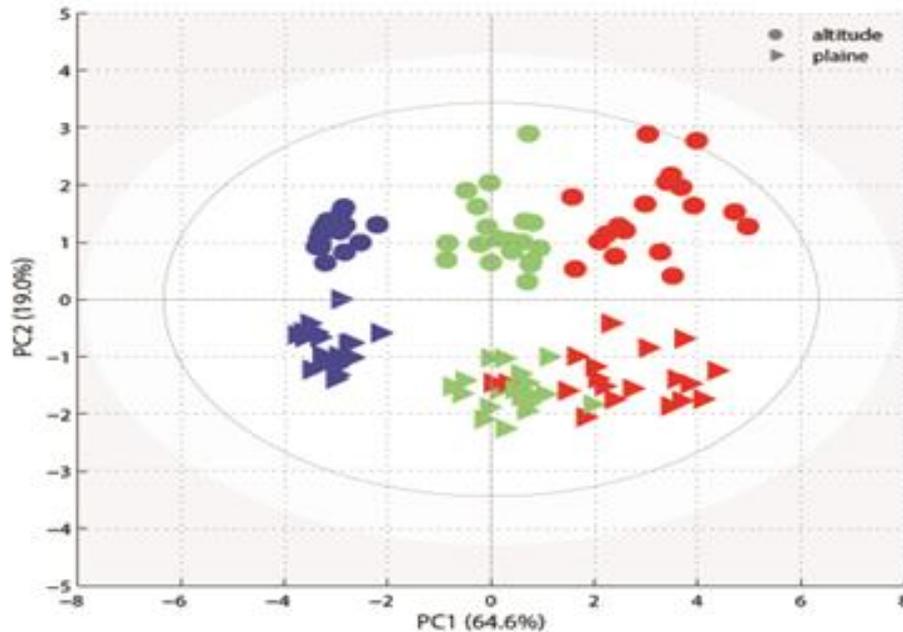


Figure 40 Score plot du modèle ACP calculé à l'aide des données cardiorespiratoires et de performances: T0 (rouge) T60 (vert) et Tmax (bleu) ; les ronds et les triangles correspondent respectivement aux spectres obtenus en altitude et en plaine.

La figure 41a représente le poids des blocs des données métabolomiques et des données cardio-respiratoires et de performance pour le calcul de chaque composante commune. Ce graphique permet de connaître le poids des blocs dans le calcul des différentes composantes communes. La figure 41b représente le score des différents échantillons pour les différentes composantes communes. Le calcul de la composante commune 1 sépare les échantillons T0, T60 et Tmax, il y a donc une discrimination des échantillons en fonction de l'intensité de l'effort. Le bloc des données cardio-respiratoires et de performance explique en grande partie le calcul de la composante 1. Le bloc de données métabolomiques entre aussi dans le calcul mais dans une moindre mesure. Lors du calcul des deuxième et quatrième composantes communes, il n'y a pas de séparation entre les différentes données en fonction du facteur intensité (T0, T60 et Tmax) ou du facteur condition des tests (plaine et altitude). A l'inverse, pour le calcul de la troisième composante commune qui sépare les échantillons plaine et altitude, le bloc de données cardio-respiratoires et de performance révèle à lui seul cette séparation.

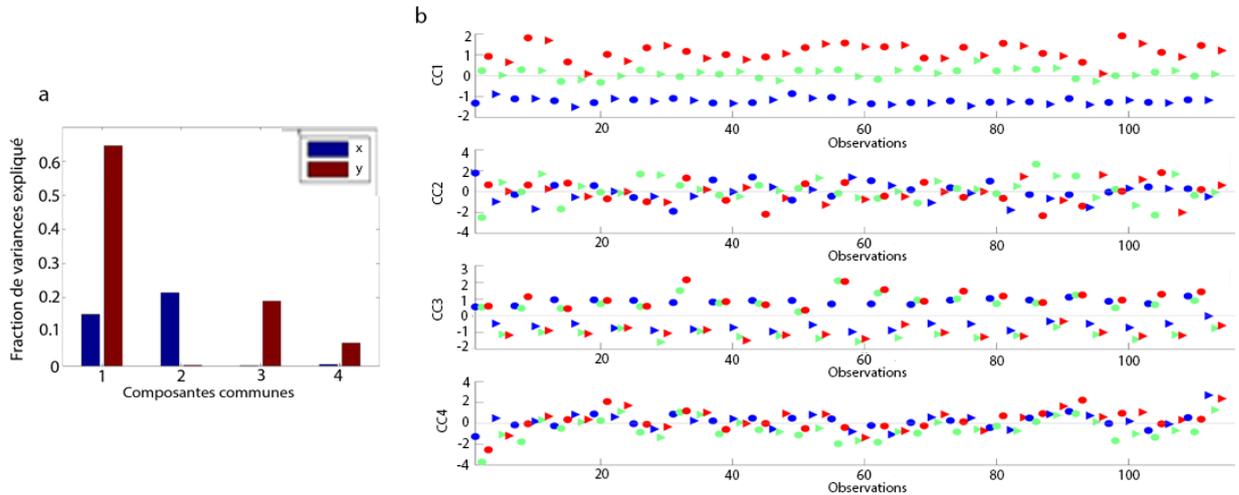


Figure 41 a) Poids des blocs des données métabolomiques (X) et des données cardio-respiratoires et de performances (Y) pour le calcul de chaque composante. b) Score des échantillons en fonction des différentes composantes communes : T0 (bleu), T60 (vert) et Tmax (rouge) et des échantillons en plaine (triangle) et en altitude (rond). CC : composante commune.

La figure 42 montre le modèle ACCPS calculé à l’aide des données cardio-respiratoires et de performance et des données métabolomiques. Le tableau 11 représente les variables cardio-respiratoires et de performance obtenues à T0, T60 et Tmax en plaine et en altitude et le tableau 10 représente les données métabolomiques qui font partie des composantes communes pour le calcul du modèle d’ACCPS.

La première composante commune discrimine les échantillons T0, T60 et Tmax en fonction des différentes variables comme vu précédemment. Les variabilités communes entre les données cardio-respiratoires et les données métabolomiques sont : 1) VE, la VO_2 , la VCO_2 , la VO_2/kg et la puissance qui augmentent avec l’augmentation de l’intensité d’exercice (Tableau 11) et le lactate (1,32 et 4,1 ppm), le glucose (entre 3 et 4 ppm), le pyruvate (2,37 ppm), et le succinate (2,41 ppm). Et 2) $PetCO_2$ et SpO_2 qui diminuent avec l’augmentation de l’intensité (Tableau 10) et les acides gras (0,9 ; 1,28 ; 1,57 ; 2,01 et 4,29 ppm) et l’acétone (2,24 ppm).

La troisième composante discrimine les échantillons plaine et les échantillons altitude en fonction des différentes variables, comme vu précédemment. Les variabilités communes entre les données cardio-respiratoires et les données métabolomiques sont : 1) $PetO_2$, $PetCO_2$ et SpO_2 qui diminuent en altitude comparé à la plaine (Tableau 11) et le 3 hydroxybutyrate (1,19 ppm). Et 2) le QR qui augmentent en altitude comparé à la plaine (Tableau 11) et l’alanine (1,48 ppm).

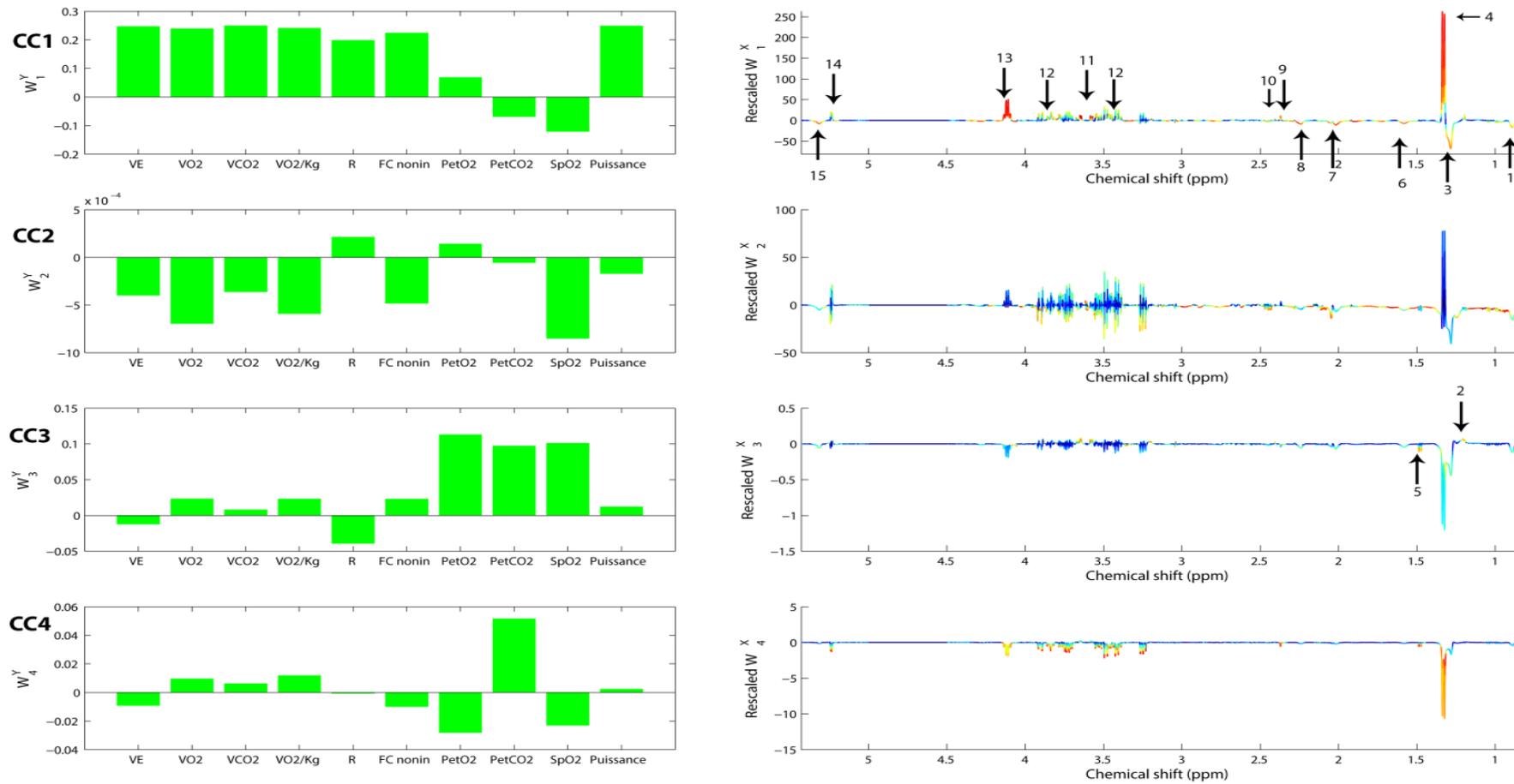


Figure 42 Variables cardio-respiratoires et de performances (à gauche) et variables métaboliques (à droite) responsables du calcul des composantes communes 1, 2, 3 et 4 des deux bases de données. CC : composantes communes

Tableau 10 Listes des métabolites qui appartiennent aux composantes communes dans les calculs en ACCPS.

Déplacements chimiques	Métabolites	Légende
0,9	CH3 des acides gras	1
1,19	3-hydroxybutyrate	2
1,28	CH ₂ acides gras	3
1,32	Lactate	4
1,48	Alanine	5
1,57	CH ₂ acides gras	6
2,01	Acide Gras	7
2,24	Acétone	8
2,37	Pyruvate	9
2,41	Succinate	10
3,57 et 3,65	Glycérol	11
3 _ 4	Glucose	12
4,1	Lactate	13
4,29	Acides gras	14
5,23	Glucose	15

Tableau 11 Données cardiaques et respiratoires mesurées au niveau de la mer et à 2 150 m avant test d'endurance, à 60 min après le test d'endurance et après épuisement : n=19 sujets en plaine et 19 sujets en altitude.

		VE	VO ₂	VCO ₂	VO ₂ /kg	QR	FC	PetO ₂	PetCO ₂	SpO ₂	Puissance
		<i>L.min⁻¹</i>	<i>mL.min⁻¹</i>	<i>mL.min⁻¹</i>	<i>mL.min⁻¹.kg⁻¹</i>		<i>bpm</i>	<i>mmHg</i>	<i>mmHg</i>	<i>%</i>	<i>Watts</i>
Plaine T0	Moyenne	22,5	910,03	747,39	11,9	0,82	76	103,45	39,35	99,45	0
	Ecart Type	6,46	247,13	219,79	2,99	0,09	17	4,55	3,39	0,59	0
Altitude T0	Moyenne	24,93	829,84	749,63	10,79	0,91 **	69	74,8**	34,4 **	97,50*	0
	Ecart Type	4,53	151,25	137,42	1,75	0,07	19	3,3	2,37	1,02	0
Plaine T60	Moyenne	74,98 ##	2783,93 ##	2578,82##	36,44##	0,93##	146,15##	107,15##	40,5#	98,95	203##
	Ecart Type	12,3	453,44	428,22	5,29	0,06	14,56	3,86	3,40	0,86	32
Altitude T60	Moyenne	76,03##	2399,37*##	2399,37 *##	32,63 **##	0,96*##	126,65**##	76,25**	35,5**	92,30**##	183**##
	Ecart Type	9,42	377,73	377,73	5,54	0,06	34,71	3,22	3,72	3,44	29
Plaine Tmax	Moyenne	123,86 ##	3505,33##	3808,90##	45,88##	1,08##	169,60##	115,20##	37,10##	97,55	330##
	Ecart Type	30,30	686,81	881,88	8,38	0,11	11,05	4,79	3,51	2,31	59
Altitude Tmax	Moyenne	145,45 **##	3240,73**##	3912,17##	42,21**##	1,21**##	166,95##	85,80**##	31,00**##	91,10**#	315##
	Ecart Type	27,84	514,81	638,67	6,47	0,09	12,94	3,44	3,69	3,97	50

Significativement différent par rapport à la plaine *p<0.05 ** p<0.001

Significativement différent par rapport au temps précédent # p<0.05, ## p<0.001

4. Discussion

Le but de cette étude est de mettre en avant les variabilités communes entre les données cardio-respiratoires et de performance et les données métabolomiques plasmatiques, afin de mieux comprendre les mécanismes adaptatifs lors d'un exercice réalisé en plaine comparé au même exercice effectué en altitude.

Le calcul du modèle ACP à l'aide des données métabolomiques a permis de montrer une légère séparation entre T0, T60 et Tmax, mais n'a pas pu discriminer les échantillons récoltés en plaine et en altitude. D'autre part, le calcul du modèle ACP à l'aide des données cardio-respiratoires et de performance a permis de discriminer les données à T0, T60 et Tmax mais aussi les données obtenues en plaine et en altitude. Afin de mettre en avant les variabilités communes entre les deux blocs de données, la méthode ACCPS a été utilisée.

La méthode ACCPS nous a permis de mettre en avant des composantes communes entre un bloc de données cardio-respiratoires et de performance et les données plasmatiques métabolomiques. La première composante commune entre les blocs de données a permis de discriminer les sujets entre T0, T60 et Tmax. Le poids des données cardio respiratoires et de performance est plus important que le poids des données métabolomiques mais les deux blocs font partie intégrante du modèle. Les données cardio-respiratoires, qui augmentent avec l'intensité de l'exercice et qui ont un poids important dans le calcul des composantes communes permettant de discriminer T0, T60 et Tmax sont la VE, la VO₂, la VCO₂ et la VO₂/kg. Ce résultat est logique puisque plus l'intensité de l'exercice, plus les muscles ont besoin d'O₂ pour fonctionner. Les variabilités communes entre l'augmentation de ces paramètres cardio-respiratoires et les données métabolomiques sont les métabolites connus pour augmenter dans le plasma lors d'un exercice physique de haute intensité (pyruvate, succinate, lactate). En effet, dans ce cas, la glycolyse devient la voie énergétique prioritaire pour la production d'énergie.

Les variables cardio-respiratoires et de performance importantes dans le calcul de la première composante commune et qui diminuent avec l'augmentation de l'intensité sont PetCO₂ et SpO₂. Les variabilités commune entre la diminution des variables cardio-respiratoires et de performance et les données métabolomiques sont les acides gras et l'acétone. Ces résultats montrent donc qu'il y a un lien entre la SpO₂ et l'utilisation des acides gras. En revanche, en l'état actuel des connaissances, il n'est pas possible de savoir le sens de cette variabilité.

La troisième composante commune calculée par ACCPS discrimine les données obtenues en plaine et celles obtenues en altitude. Pour cette composante commune, le bloc de données cardio-respiratoires et de performance a un poids très important alors que le bloc de données métabolomiques n'a presque pas de poids dans le calcul. Les variables cardio-respiratoires et de performance importantes dans le calcul de la 3^{ème} composante commune et qui diminuent en altitude comparé à la plaine sont PetCO₂ et SpO₂. La variabilité commune entre la diminution des variables cardio-respiratoires et de performance et les données métabolomiques est le 3-hydroxybutyrate, corps cétonique produit lors d'une mobilisation élevée des acides gras libres. Encore une fois, ces résultats font le lien entre la SpO₂ et l'utilisation des acides gras. A l'inverse lors du calcul de la troisième composante commune, le QR augmente entre la plaine et l'altitude et la variabilité commune avec le bloc de données métabolomiques est l'alanine. Bigard et al (2007) ont montré que l'augmentation de l'alanine plasmatique résulte d'une production accrue par les muscles actifs, le niveau de production étant dépendant de l'intensité de l'exercice. Plus l'intensité d'exercice augmente et plus le débit de production de d'alanine s'élève (Lemon 1997). Cette augmentation de l'alanine plasmatique pourrait provenir de la production intra-cellulaire d'alanine à partir du pyruvate dérivé de la glycolyse. Cette explication peut être liée à l'augmentation du QR qui a été montrée lors d'un exercice en altitude par rapport à la plaine (Messier et al. 2017; Katayama et al. 2010). L'augmentation de l'alanine plasmatique pourrait également être due au transfert des radicaux azotés provenant d'acides aminés branchés. Cette explication impliquerait donc une augmentation de l'utilisation des AAR, résultat que nous avons trouvé dans nos 2 premières études.

5. Conclusion

L'analyse en ACCPS nous a permis tout d'abord de mettre en avant des variabilités communes entre les données cardio-respiratoires et métabolomiques qui permettent de séparer les échantillons T0, T60 et Tmax, c'est-à-dire de trouver des variabilités communes en fonction de l'intensité de l'exercice. Il a ainsi été montré que l'augmentation de l'intensité d'effort induit une variabilité entre les paramètres cardio-respiratoires caractéristiques de l'augmentation de l'apport d'O₂ aux muscles et les métabolites caractéristiques d'une augmentation de la production d'énergie par glycolyse. D'autre part, il a été mis en avant des variabilités communes entre les deux blocs de données qui permettent de discriminer l'effort effectué en plaine de celui effectué en altitude. La composante commune 3 montre que la variabilité commune entre les deux blocs de données est le QR et la production d'alanine. Il

semblerait que l'utilisation des AAR accrue en altitude puisse être confirmée, mais ces résultats doivent être confirmés par des études complémentaires.

Conclusion générale et perspectives

Les travaux de cette thèse montrent que des modifications biochimiques sont mises en jeu lors de l'adaptation à l'altitude pendant un exercice physique. Ces résultats ont pu être obtenus grâce à la métabolomique par ^1H RMN. Les principaux apports de ce travail peuvent être regroupés en deux grandes parties : les aspects métaboliques et les aspects méthodologiques.

Tout d'abord, nous allons commencer par les aspects métaboliques. A l'heure actuelle, notre étude est la seule dans la littérature à avoir utilisé la ^1H RMN pour caractériser les modulations métaboliques induites par un exercice en altitude. Grâce à cette méthode innovante, nous avons pu mettre en évidence une utilisation accrue des AAR en altitude modérée que ce soit lors d'un exercice d'endurance ou lors d'un exercice d'endurance jusqu'à épuisement. Lors de l'exercice d'endurance, il semblerait que les AAR aient été utilisés pour essayer de maintenir la glycémie stable en altitude mais pas en plaine. Au regard des résultats obtenus, il serait judicieux d'effectuer des études supplémentaires sur l'intérêt potentiel d'une supplémentation en AAR et en glucose en altitude lors d'un effort d'endurance. Le but étant d'observer si cette supplémentation permettrait de maintenir une glycémie stable et de protéger les réserves en AAR. Si l'apport en AAR et en glucose en altitude permet de limiter la baisse de la glycémie en altitude, la recommandation d'une boisson énergétique spécifique adaptée pourrait être envisagée. Toutefois, dans notre travail, la population d'étude était exclusivement masculine. Or, il a été montré que l'exposition à la haute altitude peut modifier l'utilisation des substrats différemment chez les femmes et chez les hommes (Beidleman et al. 2002; Braun et al. 2000). Généraliser les résultats des études sur les hommes à l'ensemble de la population (hommes et femmes) peut donc être risqué. Afin de pouvoir faire des recommandations à l'ensemble de la population sportive, il est donc nécessaire d'étudier les modulations métaboliques par ^1H RMN des femmes lors d'un exercice d'endurance en altitude. D'autre part, lors de nos expériences, la charge de travail était constante pendant une heure en plaine et en altitude. Or, lors d'une course réelle, les dénivelés sont plus importants en altitude qu'en plaine. Les modes de contraction ne sont pas les mêmes lors des phases de montée ou de plat. Les contractions musculaires sont majoritairement concentriques lors des phases de montée alors que, lors des phases de descente, elles sont principalement excentriques. Il est bien connu que les contractions excentriques ont un effet plus important sur le catabolisme musculaire, ce qui pourrait avoir un impact sur le métabolome plasmatique et urinaire. De ce fait, pour refléter plus fidèlement une course réelle, il semblerait judicieux

de réaliser une étude lors d'une course officielle en altitude, afin de prendre en compte le dénivelé dans nos analyses.

D'autre part, les résultats de ce travail mettent en évidence plusieurs recommandations méthodologiques. Notre étude a permis de mettre en avant le fait que l'utilisation de l'urine est adaptée pour la compréhension des adaptations métaboliques lors d'un effort en altitude. En effet, les résultats obtenus dans les urines confirment les résultats obtenus dans les plasmas permettant donc d'affirmer que l'utilisation des urines peut être un moyen de s'affranchir des prélèvements invasifs nécessaires pour l'analyse des plasmas. A l'avenir, l'utilisation d'échantillons biologiques obtenus non invasivement pourrait donc être une meilleure solution pour comprendre les modulations métaboliques chez l'Homme, et surtout chez les athlètes. En effet, l'urine pourrait être utilisée pour comprendre les effets de l'acclimatation à l'altitude et/ou les effets de l'entraînement en altitude pendant de longue période sur l'utilisation des différentes voies métaboliques. Il pourrait être envisagé de prélever des échantillons urinaires quotidiennement, ce qui serait infaisable avec des échantillons sanguins (comité d'éthique et refus des athlètes et/ou des entraîneurs). L'utilisation des urines offre donc la possibilité de travailler au plus près des conditions réelles de pratique et de compétition. L'analyse des urines a aussi mis en avant un dysfonctionnement rénal réversible en plaine et en altitude ce qui n'a pas été montré dans les plasmas. Ces résultats pourraient suggérer une sensibilité plus importante des analyses effectuées avec les urines par rapport à celles avec les plasmas. Cette sensibilité améliorée souligne d'autant plus l'intérêt de l'utilisation des urines dans le cadre de la recherche en science du sport. Toutefois, d'un point de vue statistique, si l'utilisation d'une vingtaine de sujets est suffisante pour l'étude des plasmas, dans les urines, il semblerait qu'il faille utiliser un nombre plus important de sujets afin d'obtenir des modèles statistiques aussi puissants et robustes que dans les plasmas. Cependant, les recherches qui étudient les effets d'un exercice ou d'une exposition à l'hypoxie à l'aide de la métabolomique ^1H RMN dans les urines, utilisent au maximum une vingtaine de sujets (Tableau 3).

Pour finir, nous avons utilisé une méthode d'analyse statistique innovante, l'ACCPS qui permet de mettre en avant la variabilité commune entre deux blocs de données. Ainsi, nous avons mis en évidence des variabilités communes entre un bloc de données cardio-respiratoires et un bloc de données métabolomiques obtenues dans les plasmas. La méthode ACCPS a montré son efficacité en utilisant deux blocs de données, la prochaine étape pourrait être la mise en commun des données métabolomiques plasmatiques, urinaires et des données

cardio-respiratoires. Actuellement, les méthodes statistiques et les logiciels utilisés ne permettent pas d'effectuer ces analyses de manière robuste et efficace. Mais les méthodes - omiques sont en plein développement et les outils mathématiques, statistiques et les « workflow » bio-informatiques pour l'analyse des données sont de plus en plus puissants, ce qui laisse envisager pour l'avenir des analyses inédites des modulations métaboliques et donc de belles perspectives d'étude.

Références bibliographiques

- Alexander, J. K., L. H. Hartley, M. Modelski, et R. F. Grover. 1967. « Reduction of Stroke Volume during Exercise in Man Following Ascent to 3,100 m Altitude. » *Journal of Applied Physiology* 23 (6):849-58.
- Amann, Markus, David F. Pegelow, Anthony J. Jacques, et Jerome A. Dempsey. 2007. « Inspiratory Muscle Work in Acute Hypoxia Influences Locomotor Muscle Fatigue and Exercise Performance of Healthy Humans ». *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 293 (5):R2036-45. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00442.2007>.
- Badier, M., C. Guillot, F. Lagier-Tessonier, et Y. Jammes. 1994. « EMG Changes in Respiratory and Skeletal Muscles during Isometric Contraction under Normoxic, Hypoxemic, or Ischemic Conditions ». *Muscle & Nerve* 17 (5):500-508. <https://doi.org/10.1002/mus.880170506>.
- Bairaktari, Eleni, Konstantin Seferiadis, George Liamis, Nikolaos Psihogios, Orestes Tsolas, et Moses Elisaf. 2002. « Rhabdomyolysis-Related Renal Tubular Damage Studied by Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Urine ». *Clinical Chemistry* 48 (7):1106-9.
- Baker, John M., Nathaniel D. Hawkins, Jane L. Ward, Alison Lovegrove, Johnathan A. Napier, Peter R. Shewry, et Michael H. Beale. 2006. « A Metabolomic Study of Substantial Equivalence of Field-Grown Genetically Modified Wheat ». *Plant Biotechnology Journal* 4 (4):381-92. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2006.00197.x>.
- Barba, Ignasi, Gustavo de León, Eva Martín, Antonio Cuevas, Santiago Aguade, Jaume Candell-Riera, José A. Barrabés, et David Garcia-Dorado. 2008. « Nuclear Magnetic Resonance-Based Metabolomics Predicts Exercise-Induced Ischemia in Patients with Suspected Coronary Artery Disease ». *Magnetic Resonance in Medicine* 60 (1):27-32. <https://doi.org/10.1002/mrm.21632>.
- Bärtsch, P., et B. Saltin. 2008. « General Introduction to Altitude Adaptation and Mountain Sickness ». *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports* 18 Suppl 1 (août):1-10. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0838.2008.00827.x>.
- Bärtsch, Peter, et J. Simon R. Gibbs. 2007. « Effect of Altitude on the Heart and the Lungs ». *Circulation* 116 (19):2191-2202. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.650796>.
- Baudouin, Anne. s. d. « RMN Analyse ». Consulté le 8 août 2017. <http://www.sciencefrance.com/techniques/RMN/RMN.html>.
- Beckonert, Olaf, Hector C. Keun, Timothy M. D. Ebbels, Jacob Bundy, Elaine Holmes, John C. Lindon, et Jeremy K. Nicholson. 2007. « Metabolic Profiling, Metabolomic and Metabonomic Procedures for NMR Spectroscopy of Urine, Plasma, Serum and Tissue Extracts ». *Nature Protocols* 2 (11):2692-2703. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.376>.

- Beidleman, Beth A., Paul B. Rock, Stephen R. Muza, Charles S. Fulco, Lindsay L. Gibson, Gary H. Kamimori, et Allen Cymerman. 2002. « Substrate Oxidation Is Altered in Women during Exercise upon Acute Altitude Exposure »: *Medicine & Science in Sports & Exercise* 34 (3):430-37. <https://doi.org/10.1097/00005768-200203000-00008>.
- Bendahan, D., M. Badier, Y. Jammes, S. Confort-Gouny, A. M. Salvan, C. Guillot, et P. J. Cozzone. 1998. « Metabolic and Myoelectrical Effects of Acute Hypoxaemia during Isometric Contraction of Forearm Muscles in Humans: A Combined ³¹P-Magnetic Resonance Spectroscopy-Surface Electromyogram (MRS-SEMG) Study ». *Clinical Science (London, England: 1979)* 94 (3):279-86.
- Bender, P. R., B. M. Groves, R. E. McCullough, R. G. McCullough, S. Y. Huang, A. J. Hamilton, P. D. Wagner, A. Cymerman, et J. T. Reeves. 1988. « Oxygen Transport to Exercising Leg in Chronic Hypoxia ». *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 65 (6):2592-97.
- Benoit, Henri, Thierry Busso, Josiane Castells, Andre Geysant, et Christian Denis. 2003. « Decrease in Peak Heart Rate with Acute Hypoxia in Relation to Sea Level VO₂(max) ». *European Journal of Applied Physiology* 90 (5-6):514-19. <https://doi.org/10.1007/s00421-003-0899-y>.
- Bergström, Jonas, Peter Fürst, et Eric Hultman. 1985. « Free Amino Acids in Muscle Tissue and Plasma during Exercise in Man ». *Clinical Physiology* 5 (2):155-60. <https://doi.org/10.1111/j.1475-097X.1985.tb00591.x>.
- Bertram, Hanne Christine, Anders Malmendal, Bent O. Petersen, Jens Chr Madsen, Henrik Pedersen, Niels Chr Nielsen, Camilla Hoppe, Christian Mølgaard, Kim F. Michaelsen, et Jens Ø Duus. 2007. « Effect of Magnetic Field Strength on NMR-Based Metabonomic Human Urine Data. Comparative Study of 250, 400, 500, and 800 MHz ». *Analytical Chemistry* 79 (18):7110-15. <https://doi.org/10.1021/ac070928a>.
- Bigard, A. X., P. Satabin, P. Lavier, F. Canon, D. Taillandier, et C. Y. Guezennec. 1993. « Effects of Protein Supplementation during Prolonged Exercise at Moderate Altitude on Performance and Plasma Amino Acid Pattern ». *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* 66 (1):5-10. <https://doi.org/10.1007/BF00863392>.
- Bigard, Xavier, et Charles-Yannick Guezennec. 2007. *Nutrition du sportif*. Elsevier Masson.
- Biochimie de Harper*. 2017. <http://www.deboecksuperieur.com/ouvrage/9782804175610-biochimie-de-harper>.
- Bonetti, Darrell L., et Will G. Hopkins. 2009. « Sea-Level Exercise Performance Following Adaptation to Hypoxia: A Meta-Analysis ». *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)* 39 (2):107-27.
- Boos, Christopher John, John Paul O'Hara, Adrian Mellor, Peter David Hodkinson, Costas Tsakirides, Nicola Reeve, Liam Gallagher, Nicholas Donald Charles Green, et David Richard Woods. 2016. « A Four-Way Comparison of Cardiac Function with Normobaric Normoxia, Normobaric Hypoxia, Hypobaric Hypoxia and Genuine High Altitude ». *PloS One* 11 (4):e0152868. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152868>.

- Bouissou, P., C. Guezennec, G. Defer, et P. Pesquies. 1987. « Oxygen Consumption, Lactate Accumulation, and Sympathetic Response During Prolonged Exercise Under Hypoxia ». *International Journal of Sports Medicine* 08 (04):266-69. <https://doi.org/10.1055/s-2008-1025667>.
- Boussuges, A., F. Molenat, H. Burnet, E. Cauchy, B. Gardette, J. M. Sainty, Y. Jammes, et J. P. Richalet. 2000. « Operation Everest III (Comex '97): Modifications of Cardiac Function Secondary to Altitude-Induced Hypoxia. An Echocardiographic and Doppler Study ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 161 (1):264-70. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.161.1.9902096>.
- Brand, M. D. 2005. « The Efficiency and Plasticity of Mitochondrial Energy Transduction ». *Biochemical Society Transactions* 33 (Pt 5):897-904. <https://doi.org/10.1042/BST20050897>.
- Braun, Barry, Jacinda T. Mawson, Stephen R. Muza, Shannon B. Dominick, George A. Brooks, Michael A. Horning, Paul B. Rock, et al. 2000. « Women at Altitude: Carbohydrate Utilization during Exercise at 4,300 M ». *Journal of Applied Physiology* 88 (1):246-56.
- Brimioulle, S., P. LeJeune, et R. Naeije. 1996. « Effects of Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction on Pulmonary Gas Exchange ». *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 81 (4):1535-43.
- Brooks, G. A. 1997. « Importance of the “crossover” Concept in Exercise Metabolism ». *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology* 24 (11):889-95.
- Brooks, G. A., G. E. Butterfield, R. R. Wolfe, B. M. Groves, R. S. Mazzeo, J. R. Sutton, E. E. Wolfel, et J. T. Reeves. 1991. « Increased Dependence on Blood Glucose after Acclimatization to 4,300 M ». *Journal of Applied Physiology* 70 (2):919-27.
- Brooks, G. A., et J. Mercier. 1994a. « Balance of Carbohydrate and Lipid Utilization during Exercise: The “Crossover” Concept ». *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 76 (6):2253-61.
- Brooks, G. A., et J. Mercier. 1994a 1994b. « Balance of Carbohydrate and Lipid Utilization during Exercise: The “Crossover” Concept ». *Journal of Applied Physiology* 76 (6):2253-61.
- Buchfuhrer, M. J., J. E. Hansen, T. E. Robinson, D. Y. Sue, K. Wasserman, et B. J. Whipp. 1983. « Optimizing the Exercise Protocol for Cardiopulmonary Assessment ». *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology* 55 (5):1558-64.
- Cabasson, Cécile, Yosra Ben Akal-Ben Fatma, Hédia Hédiji, et Dominique Rolin. 2008. « L'étude du métabolome de la tomate par RMN du proton ». <http://liris.cnrs.fr/~cnriut08/actes/articles/202.pdf>.
- Calbet, J. a. L., R. Boushel, G. Rådegran, H. Søndergaard, P. D. Wagner, et B. Saltin. 2003. « Determinants of Maximal Oxygen Uptake in Severe Acute Hypoxia ». *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 284 (2):R291-303. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00155.2002>.

- Calbet, José A. L., Göran Rådegran, Robert Boushel, et Bengt Saltin. 2009. « On the Mechanisms That Limit Oxygen Uptake during Exercise in Acute and Chronic Hypoxia: Role of Muscle Mass ». *The Journal of Physiology* 587 (2):477-90. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.162271>.
- Calbet, José A L, Paul Robach, Carsten Lundby, et Robert Boushel. 2008. « Is Pulmonary Gas Exchange during Exercise in Hypoxia Impaired with the Increase of Cardiac Output? » *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism = Physiologie Appliquée, Nutrition et Métabolisme* 33 (3):593-600. <https://doi.org/10.1139/H08-010>.
- Caqueland, F., H. Burnet, F. Tagliarini, E. Cauchy, J. P. Richalet, et Y. Jammes. 2000. « Effects of Prolonged Hypobaric Hypoxia on Human Skeletal Muscle Function and Electromyographic Events ». *Clinical Science (London, England: 1979)* 98 (3):329-37.
- Cerretelli, P. 1976. « Limiting Factors to Oxygen Transport on Mount Everest ». *Journal of Applied Physiology* 40 (5):658-67.
- Chapman, R F, M Emery, et J M Stager. 1999. « Degree of arterial desaturation in normoxia influences VO₂max decline in mild hypoxia ». *Medicine and science in sports and exercise* 31 (5):658-63.
- Chapman, Robert F., Jonathon L. Stickford, et Benjamin D. Levine. 2010. « Altitude Training Considerations for the Winter Sport Athlete ». *Experimental Physiology* 95 (3):411-21. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2009.050377>.
- Chevront, Samuel N., Robert Carter, et Michael N. Sawka. 2003. « Fluid Balance and Endurance Exercise Performance ». *Current Sports Medicine Reports* 4 (2):202-8. <https://doi.org/10.1007/s11932-003-0006-5>.
- Chevront, Samuel N., Robert W. Kenefick, Scott J. Montain, et Michael N. Sawka. 2010. « Mechanisms of Aerobic Performance Impairment with Heat Stress and Dehydration ». *Journal of Applied Physiology* 109 (6):1989-95. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00367.2010>.
- Chorell, Elin, Thomas Moritz, Stefan Branth, Henrik Antti, et Michael B. Svensson. 2009. « Predictive Metabolomics Evaluation of Nutrition-Modulated Metabolic Stress Responses in Human Blood Serum During the Early Recovery Phase of Strenuous Physical Exercise ». *Journal of Proteome Research* 8 (6):2966-77. <https://doi.org/10.1021/pr900081q>.
- Chorell, Elin, Michael B. Svensson, Thomas Moritz, et Henrik Antti. 2012. « Physical Fitness Level Is Reflected by Alterations in the Human Plasma Metabolome ». *Molecular BioSystems* 8 (4):1187-96. <https://doi.org/10.1039/c2mb05428k>.
- Conkin, Johnny, et James H. Wessel. 2008. « Critique of the Equivalent Air Altitude Model ». *Aviation, Space, and Environmental Medicine* 79 (10):975-82. <https://doi.org/10.3357/ASEM.2331.2008>.
- Coolen, Stefan A., Clare A. Daykin, John P. M. van Duynhoven, Ferdi A. van Dorsten, Florian Wulfert, Jolanda Mathot, Marc R. Scheltinga, Otto Stroosma, Huib Vader, et Marc H. Wijnen. 2008. « Measurement of Ischaemia-Reperfusion in Patients with

- Intermittent Claudication Using NMR-Based Metabonomics ». *NMR in Biomedicine* 21 (7):686-95. <https://doi.org/10.1002/nbm.1242>.
- Cooper, D. M., D. H. Wasserman, M. Vranic, et K. Wasserman. 1986. « Glucose Turnover in Response to Exercise during High- and Low-FIO₂ Breathing in Man ». *The American Journal of Physiology* 251 (2 Pt 1):E209-214.
- Cordella, Christophe B. Y., et Dominique Bertrand. 2014. « SAISIR: A new general chemometric toolbox ». *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 54 (Supplement C):75-82. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.10.009>.
- Courcoux, Philippe, Marie-Françoise Devaux, et Brigitte Bouchet. 2002. « Simultaneous decomposition of multivariate images using three-way data analysis: Application to the comparison of cereal grains by confocal laser scanning microscopy ». *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 62 (2):103-13. [https://doi.org/10.1016/S0169-7439\(02\)00013-8](https://doi.org/10.1016/S0169-7439(02)00013-8).
- Cunningham, W. L., E. J. Becker, et F. Kreuzer. 1965. « Catecholamines in Plasma and Urine at High Altitude ». *Journal of Applied Physiology* 20 (4):607-10.
- DA Rodriguez, G Alcarraz-Vizan, FP Gomez, S Diaz-Moralli, E Gimeno, M Reed, U Gunther, J Roca, et M Cascante. s. d. « Plasma Metabolomic Profile in COPD Patients: Effects of Endurance Training. » In *A18. PULMONARY REHABILITATION: ADDING MUSCLE TO THERAPY FOR PATIENTS WITH RESPIRATORY DISEASE*, A1050. American Thoracic Society International Conference Abstracts. American Thoracic Society. Consulté le 12 novembre 2014. http://www.atsjournals.org/doi/abs/10.1164/ajrccm-conference.2009.179.1_MeetingAbstracts.A1050.
- Daut, J., et G. Elzinga. 1989. « Substrate Dependence of Energy Metabolism in Isolated Guinea-Pig Cardiac Muscle: A Microcalorimetric Study ». *The Journal of Physiology* 413 (juin):379-97.
- Decramer, Stéphane, Anne Gonzalez de Peredo, Benjamin Breuil, Harald Mischak, Bernard Monsarrat, Jean-Loup Bascands, et Joost P. Schanstra. 2008. « Urine in Clinical Proteomics ». *Molecular & Cellular Proteomics* 7 (10):1850-62. <https://doi.org/10.1074/mcp.R800001-MCP200>.
- Dempsey, J. A., et H. V. Forster. 1982. « Mediation of Ventilatory Adaptations. » *Physiological Reviews* 62 (1):262-346.
- Dempsey, J. A., N. Gledhill, W. G. Reddan, H. V. Forster, P. G. Hanson, et A. D. Claremont. 1977. « Pulmonary Adaptation to Exercise: Effects of Exercise Type and Duration, Chronic Hypoxia and Physical Training* ». *Annals of the New York Academy of Sciences* 301 (1):243-61. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1977.tb38203.x>.
- Dettmer, Katja, et Bruce D Hammock. 2004. « Metabolomics--a new exciting field within the "omics" sciences. » *Environmental Health Perspectives* 112 (7):A396-97.
- Di Prampero, Pietro Enrico. 2003. « Factors Limiting Maximal Performance in Humans ». *European Journal of Applied Physiology* 90 (3-4):420-29. <https://doi.org/10.1007/s00421-003-0926-z>.

- Dieterle, Frank, Alfred Ross, Götz Schlotterbeck, et Hans Senn. 2006. « Probabilistic Quotient Normalization as Robust Method to Account for Dilution of Complex Biological Mixtures. Application in 1H NMR Metabonomics ». *Analytical Chemistry* 78 (13):4281-90. <https://doi.org/10.1021/ac051632c>.
- Dill, D. B., et D. S. Evans. 1970. « Report Barometric Pressure ». *Journal of Applied Physiology* 29 (6):914-16.
- DiPasquale, Dana M. 2017. « Moving the Debate Forward: Are Normobaric and Hypobaric Hypoxia Interchangeable in the Study of Altitude? » *Current Sports Medicine Reports* 16 (2):68-70. <https://doi.org/10.1249/JSR.0000000000000337>.
- Dousset, E., J. G. Steinberg, N. Balon, et Y. Jammes. 2001. « Effects of Acute Hypoxemia on Force and Surface EMG during Sustained Handgrip ». *Muscle & Nerve* 24 (3):364-71.
- Dumas, Marc-Emmanuel, Elaine C. Maibaum, Claire Teague, Hirotsugu Ueshima, Beifan Zhou, John C. Lindon, Jeremy K. Nicholson, et al. 2006. « Assessment of Analytical Reproducibility of 1H NMR Spectroscopy Based Metabonomics for Large-Scale Epidemiological Research: the INTERMAP Study ». *Analytical Chemistry* 78 (7):2199-2208. <https://doi.org/10.1021/ac0517085>.
- Durand, F., et C. Préfaut. 2000. « Similitudes physiopathologiques entre les pathologies d'altitude et l'hypoxémie induite par l'exercice ». *Science & Sports* 15 (3):154-61. [https://doi.org/10.1016/S0765-1597\(00\)80020-9](https://doi.org/10.1016/S0765-1597(00)80020-9).
- Durnin, J. V. G. A., et J. Womersley. 1974. « Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 Years ». *British Journal of Nutrition* 32 (1):77-97. <https://doi.org/10.1079/BJN19740060>.
- Enea, C., F. Seguin, J. Petitpas-Mulliez, N. Boildieu, N. Boisseau, N. Delpech, V. Diaz, M. Eugène, et B. Dugué. 2010. « 1H NMR-Based Metabolomics Approach for Exploring Urinary Metabolome Modifications after Acute and Chronic Physical Exercise ». *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 396 (3):1167-76. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-3289-4>.
- Ezan E. 2008. « L'analyse du métabolome: un nouvel outil pour les biologistes. Académie d'Agriculture de France. »
- Faoro, Vitalie, Saskia Boldingh, Mickael Moreels, Sarah Martinez, Michel Lamotte, Philippe Unger, Serge Brimiouille, Sandrine Huez, et Robert Naeije. 2009. « Bosentan Decreases Pulmonary Vascular Resistance and Improves Exercise Capacity in Acute Hypoxia ». *Chest* 135 (5):1215-22. <https://doi.org/10.1378/chest.08-2222>.
- Faoro, Vitalie, Gael Deboeck, Marco Vicenzi, Anne-Fleur Gaston, Bamodi Simaga, Grégory Doucende, Ilona Hapkova, et al. 2017. « Pulmonary Vascular Function and Aerobic Exercise Capacity at Moderate Altitude ». *Medicine and Science in Sports and Exercise*, mai. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001320>.
- Faoro, Vitalie, Michel Lamotte, Gael Deboeck, Adriana Pavelescu, Sandrine Huez, Hervé Guenard, Jean-Benoît Martinot, et Robert Naeije. 2007. « Effects of Sildenafil on

- Exercise Capacity in Hypoxic Normal Subjects ». *High Altitude Medicine & Biology* 8 (2):155-63. <https://doi.org/10.1089/ham.2007.1058>.
- Ferliche, Belén, Amador García-Ramos, Carmen Calderón-Soto, Franchek Drobnic, Juan G. Bonitch-Góngora, Pedro A. Galilea, Joan Riera, et Paulino Padial. 2014. « Effect of Acute Exposure to Moderate Altitude on Muscle Power: Hypobaric Hypoxia vs. Normobaric Hypoxia ». *PloS One* 9 (12):e114072. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114072>.
- Ferrannini, Eleuterio. 1988. « The theoretical bases of indirect calorimetry: a review ». *Metabolism* 37 (3):287-301.
- Ferretti, G., C. Moia, J. M. Thomet, et B. Kayser. 1997. « The Decrease of Maximal Oxygen Consumption during Hypoxia in Man: A Mirror Image of the Oxygen Equilibrium Curve. » *The Journal of Physiology* 498 (Pt 1):231-37.
- Fisher, J. W. 1993. « Recent Advances in Erythropoietin Research ». *Progress in Drug Research. Fortschritte Der Arzneimittelforschung. Progrès Des Recherches Pharmaceutiques* 41:293-311.
- Fishman, A. P. 1976. « Hypoxia on the Pulmonary Circulation. How and Where It Acts ». *Circulation Research* 38 (4):221-31.
- Fulco, C. S., P. B. Rock, et A. Cymerman. 1998. « Maximal and Submaximal Exercise Performance at Altitude ». *Aviation, Space, and Environmental Medicine* 69 (8):793-801.
- Fulco, Charles S., Stephen R. Muza, Beth A. Beidleman, Robby Demes, Janet E. Staab, Juli E. Jones, et Allen Cymerman. 2011. « Effect of Repeated Normobaric Hypoxia Exposures during Sleep on Acute Mountain Sickness, Exercise Performance, and Sleep during Exposure to Terrestrial Altitude ». *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 300 (2):R428-436. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00633.2010>.
- Gao, Hongchang, Baijun Dong, Xia Liu, Hanqing Xuan, Yiran Huang, et Donghai Lin. 2008. « Metabonomic profiling of renal cell carcinoma: high-resolution proton nuclear magnetic resonance spectroscopy of human serum with multivariate data analysis ». *analytica chimica acta* 624 (2):269-277.
- Gao, Y. 2013. « Urine—an untapped goldmine for biomarker discovery? », 2013, *Science China Life Sci* édition. <http://www.cnki.com.cn/Article/CJFDTotal-JCXG201312010.htm>.
- Garcia, J. A., S. B. McMinn, J. H. Zuckerman, D. E. Fixler, et B. D. Levine. 1999. « The Role of the Right Ventricle during Hypobaric Hypoxic Exercise: Insights from Patients after the Fontan Operation ». *Medicine and Science in Sports and Exercise* 31 (2):269-76.
- Gaston, A.F., E. Roca, G. Doucende, I. Hapkova, E. Subirats, et F. Durand. 2016. « Réponses physiologiques à l'exercice en altitude modérée : intérêt de la mesure de la SpO2 ». *Science & Sports* 31 (1):6-12. <https://doi.org/10.1016/j.scispo.2015.06.006>.

- Gaston, Anne-Fleur, Fabienne Durand, Emma Roca, Grégory Doucende, Ilona Hapkova, et Enric Subirats. 2016. « Exercise-Induced Hypoxaemia Developed at Sea-Level Influences Responses to Exercise at Moderate Altitude ». *PLOS ONE* 11 (9):e0161819. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161819>.
- Ge, R. L., Y. Matsuzawa, M. Takeoka, K. Kubo, M. Sekiguchi, et T. Kobayashi. 1997. « Low Pulmonary Diffusing Capacity in Subjects with Acute Mountain Sickness ». *Chest* 111 (1):58-64.
- Ge, Ri-Li, S. Witkowski, Y. Zhang, C. Alfrey, M. Sivieri, T. Karlsen, G. K. Resaland, M. Harber, J. Stray-Gundersen, et B. D. Levine. 2002. « Determinants of Erythropoietin Release in Response to Short-Term Hypobaric Hypoxia ». *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 92 (6):2361-67. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00684.2001>.
- Ghofrani, Hossein A., Frank Reichenberger, Markus G. Kohstall, Eike H. Mrosek, Timon Seeger, Horst Olschewski, Werner Seeger, et Friedrich Grimminger. 2004. « Sildenafil Increased Exercise Capacity during Hypoxia at Low Altitudes and at Mount Everest Base Camp: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Crossover Trial ». *Annals of Internal Medicine* 141 (3):169-77.
- Gibney, Michael J., Marianne Walsh, Lorraine Brennan, Helen M. Roche, Bruce German, et Ben van Ommen. 2005. « Metabolomics in Human Nutrition: Opportunities and Challenges ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 82 (3):497-503.
- González-Alonso, José, Craig G. Crandall, et John M. Johnson. 2008. « The Cardiovascular Challenge of Exercising in the Heat ». *The Journal of Physiology* 586 (1):45-53. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.142158>.
- González-Alonso, José, Ricardo Mora-Rodríguez, Paul R. Below, et Edward F. Coyle. 1997. « Dehydration Markedly Impairs Cardiovascular Function in Hyperthermic Endurance Athletes during Exercise ». *Journal of Applied Physiology* 82 (4):1229-36.
- Gore, C. J., A. G. Hahn, G. C. Scroop, D. B. Watson, K. I. Norton, R. J. Wood, D. P. Campbell, et D. L. Emonson. 1996. « Increased Arterial Desaturation in Trained Cyclists during Maximal Exercise at 580 m Altitude ». *Journal of Applied Physiology* 80 (6):2204-10.
- Grover, R. F., J. V. Weil, et J. T. Reeves. 1986. « Cardiovascular Adaptation to Exercise at High Altitude ». *Exercise and Sport Sciences Reviews* 14:269-302.
- Hackett, Peter, et Drummond Rennie. 2002. « High-Altitude Pulmonary Edema ». *JAMA* 287 (17):2275-78. <https://doi.org/10.1001/jama.287.17.2275>.
- Hall, D. P., K. Duncan, et J. Kenneth Baillie. 2011. « High Altitude Pulmonary Oedema ». *Journal of the Royal Army Medical Corps* 157 (1):68-72. <https://doi.org/10.1136/jramc-157-01-12>.
- Hawkins, Megan N., Peter B. Raven, Peter G. Snell, James Stray-Gundersen, et Benjamin D. Levine. 2007. « Maximal Oxygen Uptake as a Parametric Measure of Cardiorespiratory Capacity ». *Medicine and Science in Sports and Exercise* 39 (1):103-7. <https://doi.org/10.1249/01.mss.0000241641.75101.64>.

- Heistad, D. D., et F. M. Abboud. 1980. « Dickinson W. Richards Lecture: Circulatory Adjustments to Hypoxia. » *Circulation* 61 (3):463-70. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.61.3.463>.
- Hemmingsson, Tryggve, et Dag Linnarsson. 2009. « Lower Exhaled Nitric Oxide in Hypobaric than in Normobaric Acute Hypoxia ». *Respiratory Physiology & Neurobiology* 169 (1):74-77. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2009.08.006>.
- Heymans, C., et Jean J. Bouckaert. 1930. « Sinus caroticus and respiratory reflexes ». *The Journal of Physiology* 69 (2):254-66.
- Hinkle, P. C., M. A. Kumar, A. Resetar, et D. L. Harris. 1991. « Mechanistic Stoichiometry of Mitochondrial Oxidative Phosphorylation ». *Biochemistry* 30 (14):3576-82.
- Hochachka, P. W. 1985. « Exercise Limitations at High Altitude: The Metabolic Problem and Search for Its Solution ». In *Circulation, Respiration, and Metabolism*, 240-49. Proceedings in Life Sciences. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-70610-3_18.
- Hochachka, et Somero. 2002. *Biochemical Adaptation: Mechanism and Process in Physiological Evolution*. Oxford, New York: Oxford University Press.
- Hodgson, Adrian B., Rebecca K. Randell, Niels Boon, Ursula Garczarek, David J. Mela, Asker E. Jeukendrup, et Doris M. Jacobs. 2013. « Metabolic response to green tea extract during rest and moderate-intensity exercise ». *The Journal of Nutritional Biochemistry* 24 (1):325-34. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2012.06.017>.
- Hodson, Mark P., Gordon J. Dear, Andy D. Roberts, Claire L. Haylock, Rachel J. Ball, Robert S. Plumb, Chris L. Stumpf, Julian L. Griffin, et John N. Haselden. 2007. « A gender-specific discriminator in Sprague–Dawley rat urine: The deployment of a metabolic profiling strategy for biomarker discovery and identification ». *Analytical Biochemistry* 362 (2):182-92. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2006.12.037>.
- Hogan, R. P., T. A. Kotchen, A. E. Boyd, et L. H. Hartley. 1973. « Effect of Altitude on Renin-Aldosterone System and Metabolism of Water and Electrolytes ». *Journal of Applied Physiology* 35 (3):385-90.
- Hopkins, Susan R, Harm J Bogaard, Kyuichi Niizeki, Yoshiki Yamaya, Michael G Ziegler, et Peter D Wagner. 2003. « β -Adrenergic or parasympathetic inhibition, heart rate and cardiac output during normoxic and acute hypoxic exercise in humans ». *The Journal of Physiology* 550 (Pt 2):605-16. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.040568>.
- Horowitz, Jeffrey F., et Samuel Klein. 2000. « Lipid Metabolism during Endurance Exercise ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 72 (2):558s-563s.
- Horstman, D., R. Weiskopf, et R. E. Jackson. 1980. « Work Capacity during 3-Wk Sojourn at 4,300 m: Effects of Relative Polycythemia ». *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology* 49 (2):311-18.
- Horton, T. J., M. J. Pagliassotti, K. Hobbs, et J. O. Hill. 1998. « Fuel Metabolism in Men and Women during and after Long-Duration Exercise ». *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 85 (5):1823-32.

- Hotelling, H. 1933. « Analysis of a complex of statistical variables into principal components. » *Journal of Educational Psychology*, janvier. <https://doi.org/10.1037/h0071325>.
- Hughes, R. L., M. Clode, R. H. Edwards, T. J. Goodwin, et N. L. Jones. 1968. « Effect of Inspired O₂ on Cardiopulmonary and Metabolic Responses to Exercise in Man. » *Journal of Applied Physiology* 24 (3):336-47.
- Hughson, R. L., Y. Yamamoto, R. E. McCullough, J. R. Sutton, et J. T. Reeves. 1994. « Sympathetic and Parasympathetic Indicators of Heart Rate Control at Altitude Studied by Spectral Analysis ». *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 77 (6):2537-42.
- Jansson, E. 1982. « On the significance of the respiratory exchange ratio after different diets during exercise in man ». *Acta Physiologica Scandinavica* 114 (1):103–110.
- Jansson, E., et L. Kaijser. 1982. « Effect of Diet on the Utilization of Blood-Borne and Intramuscular Substrates during Exercise in Man ». *Acta Physiologica Scandinavica* 115 (1):19-30. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.1982.tb07041.x>.
- Katayama, Keisho, Kazushige Goto, Koji Ishida, et Futoshi Ogita. 2010. « Substrate utilization during exercise and recovery at moderate altitude ». *Metabolism* 59 (7):959-66. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2009.10.017>.
- Kayser, Bengt. 2009. « Disentangling Hypoxia and Hypobarica ». *Respiratory Physiology & Neurobiology* 169 (3):338-39. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2009.09.010>.
- Keys, Ancel, F. G. Hall, et E. S. Guzman Barron. 1936. « THE POSITION OF THE OXYGEN DISSOCIATION CURVE OF HUMAN BLOOD AT HIGH ALTITUDE ». *American Journal of Physiology -- Legacy Content* 115 (2):292-307.
- Kirwan, Gemma M., Vernon G. Coffey, Julie O. Niere, John A. Hawley, et Michael J. Adams. 2009. « Spectroscopic correlation analysis of NMR-based metabolomics in exercise science ». *Analytica Chimica Acta, Fundamental and Applied Analytical Science. A Special Issue In Honour of Alan Townshend. FAAS 2009*, 652 (1–2):173-79. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.07.011>.
- Klausen, K. 1966. « Cardiac Output in Man in Rest and Work during and after Acclimatization to 3,800 M. » *Journal of Applied Physiology* 21 (2):609-16.
- Knab, Amy M., David C. Nieman, Nicholas D. Gillitt, R. Andrew Shanely, Lynn Cialdella-Kam, Dru A. Henson, et Wei Sha. 2013. « Effects of a Flavonoid-Rich Juice on Inflammation, Oxidative Stress, and Immunity in Elite Swimmers: A Metabolomics-Based Approach ». *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism* 23 (2):150-60.
- Koundal, Sunil, Sonia Gandhi, Tanzeer Kaur, Avik Mazumder, et Subash Khushu. 2015. « “Omics” of High Altitude Biology: A Urinary Metabolomics Biomarker Study of Rats Under Hypobaric Hypoxia ». *OMICS: A Journal of Integrative Biology* 19 (12):757-65. <https://doi.org/10.1089/omi.2015.0155>.

- Kuehnbaum, Naomi L., Jenna B. Gillen, Martin J. Gibala, et Philip Britz-McKibbin. 2014. « Personalized Metabolomics for Predicting Glucose Tolerance Changes in Sedentary Women after High-Intensity Interval Training ». *Scientific Reports* 4 (août):6166. <https://doi.org/10.1038/srep06166>.
- Kuhl, Jeanette, Thomas Moritz, Henrik Wagner, Hans Stenlund, Krister Lundgren, Peter Båvenholm, Suad Efendic, Gunnar Norstedt, et Petra Tollet-Egnell. 2008. « Metabolomics as a Tool to Evaluate Exercise-Induced Improvements in Insulin Sensitivity ». *Metabolomics* 4 (3):273-82. <https://doi.org/10.1007/s11306-008-0118-2>.
- Kujala, Urho M., Ville-Petteri Mäkinen, Ilkka Heinonen, Pasi Soininen, Antti J. Kangas, Tuija H. Leskinen, Paavo Rahkila, et al. 2013. « Long-Term Leisure-Time Physical Activity and Serum Metabolome ». *Circulation* 127 (3):340-48. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.112.105551>.
- Lahiri, S., E. Mulligan, T. Nishino, A. Mokashi, et R. O. Davies. 1981. « Relative Responses of Aortic Body and Carotid Body Chemoreceptors to Carboxyhemoglobinemia ». *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology* 50 (3):580-86.
- Lawler, J., S. K. Powers, et D. Thompson. 1988. « Linear Relationship between VO₂max and VO₂max Decrement during Exposure to Acute Hypoxia ». *Journal of Applied Physiology* 64 (4):1486-92.
- Le Moyec, L., A. Pruna, M. Eugène, J. Bedrossian, J. M. Idatte, J. F. Huneau, et D. Tomé. 1993. « Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Urine and Plasma in Renal Transplantation Follow-Up ». *Nephron* 65 (3):433-39.
- Le Moyec, Laurence, Céline Robert, Mohamed N. Triba, Véronique L. Billat, Xavier Mata, Laurent Schibler, et Eric Barrey. 2014. « Protein Catabolism and High Lipid Metabolism Associated with Long-Distance Exercise Are Revealed by Plasma NMR Metabolomics in Endurance Horses ». *PLoS ONE* 9 (3):e90730. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090730>.
- Lemon, Peter W. R. 1997. « Dietary protein requirements in athletes ». *The Journal of Nutritional Biochemistry* 8 (2):52-60. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(97\)00007-7](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(97)00007-7).
- Lenz, E. M., J. Bright, I. D. Wilson, S. R. Morgan, et A. F. P. Nash. 2003. « A ¹H NMR-Based Metabonomic Study of Urine and Plasma Samples Obtained from Healthy Human Subjects ». *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 33 (5):1103-15.
- Levin, L., W. Gevers, L. Jardine, F. J. M. De Guel, et E. J. Duncan. 1983. « Serum amino acids in weight-losing patients with cancer and tuberculosis ». *European Journal of Cancer and Clinical Oncology* 19 (6):711-15. [https://doi.org/10.1016/0277-5379\(83\)90002-0](https://doi.org/10.1016/0277-5379(83)90002-0).
- Lewis, Gregory D., Laurie Farrell, Malissa J. Wood, Maryann Martinovic, Zoltan Arany, Glenn C Rowe, Amanda Souza, et al. 2010. « Metabolic Signatures of Exercise in Human Plasma ». *Science translational medicine* 2 (33):33ra37. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3001006>.

- Li, Menglin. 2015. « Urine Reflection of Changes in Blood ». In *Urine Proteomics in Kidney Disease Biomarker Discovery*, 13-19. Advances in Experimental Medicine and Biology. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-017-9523-4_2.
- Liao, Wen-Ting, Bao Liu, Jian Chen, Jian-Hua Cui, Yi-Xing Gao, Fu-Yu Liu, Gang Xu, et al. 2016. « Metabolite Modulation in Human Plasma in the Early Phase of Acclimatization to Hypobaric Hypoxia ». *Scientific Reports* 6 (mars). <https://doi.org/10.1038/srep22589>.
- Lindon, John C., et Jeremy K. Nicholson. 2008. « Spectroscopic and Statistical Techniques for Information Recovery in Metabonomics and Metabolomics ». *Annual Review of Analytical Chemistry (Palo Alto, Calif.)* 1:45-69. <https://doi.org/10.1146/annurev.anchem.1.031207.113026>.
- Lindon, John C., Jeremy K. Nicholson, et Elaine Holmes. 2011. *The Handbook of Metabonomics and Metabolomics*. Elsevier.
- LIU, Jin, Jian-Quan WU, Ji-Jun YANG, Jing-Yu WEI, Wei-Na GAO, et Chang-Jiang GUO. 2010. « Metabolomic Study on Vitamins B1, B2, and PP Supplementation to Improve Serum Metabolic Profiles in Mice under Acute Hypoxia Based on 1H NMR Analysis ». *Biomedical and Environmental Sciences* 23 (4):312-18. [https://doi.org/10.1016/S0895-3988\(10\)60069-4](https://doi.org/10.1016/S0895-3988(10)60069-4).
- Liu, Xia, Wei Zhu, Shuhong Guan, Ruihong Feng, Hui Zhang, Qiuhong Liu, Peng Sun, Donghai Lin, Naixia Zhang, et Jun Shen. 2013. « Metabolomic Analysis of Anti-Hypoxia and Anti-Anxiety Effects of Fu Fang Jin Jing Oral Liquid ». *PloS One* 8 (10):e78281. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078281>.
- Loeppky, J. A., M. Icenogle, P. Scotto, R. Robergs, H. Hinghofer-Szalkay, et R. C. Roach. 1997. « Ventilation during Simulated Altitude, Normobaric Hypoxia and Normoxic Hypobaria ». *Respiration Physiology* 107 (3):231-39.
- Loeppky, Jack A., Robert C. Roach, Damon Maes, Helmut Hinghofer-Szalkay, Andreas Roessler, Lee Gates, E. Royce Fletcher, et Milton V. Icenogle. 2005. « Role of Hypobaria in Fluid Balance Response to Hypoxia ». *High Altitude Medicine & Biology* 6 (1):60-71. <https://doi.org/10.1089/ham.2005.6.60>.
- Lou, Bih-Show, Pei-Shan Wu, Yitong Liu, et Jong-Shyan Wang. 2014. « Effects of Acute Systematic Hypoxia on Human Urinary Metabolites Using LC-MS-Based Metabolomics ». *High Altitude Medicine & Biology* 15 (2):192-202. <https://doi.org/10.1089/ham.2013.1130>.
- Louie, E. K., S. Rich, S. Levitsky, et B. H. Brundage. 1992. « Doppler Echocardiographic Demonstration of the Differential Effects of Right Ventricular Pressure and Volume Overload on Left Ventricular Geometry and Filling ». *Journal of the American College of Cardiology* 19 (1):84-90.
- Lovering, Andrew T., Lee M. Romer, Hans C. Haverkamp, David F. Pegelow, John S. Hokanson, et Marlowe W. Eldridge. 2008. « Intrapulmonary Shunting and Pulmonary Gas Exchange during Normoxic and Hypoxic Exercise in Healthy Humans ». *Journal of Applied Physiology* 104 (5):1418-25. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00208.2007>.

- Lundby, C. e, et Gerrit Van Hall. 2002. « Substrate utilization in sea level residents during exercise in acute hypoxia and after 4 weeks of acclimatization to 4100 m ». *Acta physiologica scandinavica* 176 (3):195–201.
- Lundby, C., et P. Robach. 2015. « Performance Enhancement: What Are the Physiological Limits? » *Physiology* 30 (4):282-92. <https://doi.org/10.1152/physiol.00052.2014>.
- Lundby, Carsten, Mikael Sander, Gerrit van Hall, Bengt Saltin, et José A L Calbet. 2006. « Maximal exercise and muscle oxygen extraction in acclimatizing lowlanders and high altitude natives ». *The Journal of Physiology* 573 (Pt 2):535-47. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.106765>.
- Lundby, P. Møller, I. L. Kanstrup, et N. V. Olsen. 2001. « Heart Rate Response to Hypoxic Exercise: Role of Dopamine D2-Receptors and Effect of Oxygen Supplementation ». *Clinical Science (London, England: 1979)* 101 (4):377-83.
- Luo, Yongjun, Junyu Zhu, et Yuqi Gao. 2012. « Metabolomic Analysis of the Plasma of Patients with High-Altitude Pulmonary Edema (HAPE) Using 1H NMR ». *Molecular BioSystems* 8 (6):1783-88. <https://doi.org/10.1039/C2MB25044F>.
- Lupton, Hartley, et A. V. Hill. 1923. « An Analysis of the Effects of Speed on the Mechanical Efficiency of Human Muscular Movement ». *The Journal of Physiology* 57 (6):337-53. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1923.sp002072>.
- Maes, Emmanuelle. 2009. *La resonance magnetique nucleaire (Apprentissage à l'interprétation des spectres à une et deux dimensions des chaînes O-glycanniques)*.
- Maggiorini, M., et F. Léon-Velarde. 2003. « High-Altitude Pulmonary Hypertension: A Pathophysiological Entity to Different Diseases ». *The European Respiratory Journal* 22 (6):1019-25.
- Martin, D, S Powers, M Cicale, N Collop, D Huang, et D Criswell. 1992. « Validity of pulse oximetry during exercise in elite endurance athletes ». *Journal of applied physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 72 (2):455-58.
- Martin, Daniel, et Joseph O’Kroy. 1993. « Effects of acute hypoxia on the VO₂ max of trained and untrained subjects ». *Journal of Sports Sciences* 11 (1):37-42. <https://doi.org/10.1080/02640419308729961>.
- Mazzeo, R. S., E. E. Wolfel, G. E. Butterfield, et J. T. Reeves. 1994. « Sympathetic Response during 21 Days at High Altitude (4,300 m) as Determined by Urinary and Arterial Catecholamines ». *Metabolism: Clinical and Experimental* 43 (10):1226-32.
- Mazzeo, Robert S. 2008a. « Physiological Responses to Exercise at Altitude : An Update ». *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)* 38 (1):1-8.
- Mazzeo. 2008b. « Physiological Responses to Exercise at Altitude ». *Sports Medicine* 38 (1):1-8. <https://doi.org/10.2165/00007256-200838010-00001>.
- McClelland, Grant B. 2004. « Fat to the Fire: The Regulation of Lipid Oxidation with Exercise and Environmental Stress ». *Comparative Biochemistry and Physiology. Part*

- B, Biochemistry & Molecular Biology* 139 (3):443-60.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2004.07.003>.
- Mckay, Ryan T. 2011. « How the 1D-NOESY Suppresses Solvent Signal in Metabonomics NMR Spectroscopy: An Examination of the Pulse Sequence Components and Evolution ». *Concepts in Magnetic Resonance Part A* 38A (5):197-220.
<https://doi.org/10.1002/cmr.a.20223>.
- Mercier, Pascal, Michael J. Lewis, David Chang, David Baker, et David S. Wishart. 2011. « Towards Automatic Metabolomic Profiling of High-Resolution One-Dimensional Proton NMR Spectra ». *Journal of Biomolecular NMR* 49 (3-4):307-23.
<https://doi.org/10.1007/s10858-011-9480-x>.
- Messier, Florian M, Laurence Le Moyec, Carole Santi, Anne-Fleur Gaston, Mohamed N Triba, Emma Roca, et Fabienne Durand. 2017. « The impact of moderate altitude on exercise metabolism in recreational sportsmen: a nuclear magnetic resonance metabolomic approach ». *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, juin.
<https://doi.org/10.1139/apnm-2016-0717>.
- Miccheli, Alfredo, Federico Marini, Giorgio Capuani, Alberta Tomassini Miccheli, Maurizio Delfini, Maria Enrica Di Cocco, Caterina Puccetti, Maurizio Paci, Marta Rizzo, et Antonio Spataro. 2009. « The Influence of a Sports Drink on the Postexercise Metabolism of Elite Athletes as Investigated by NMR-Based Metabolomics ». *Journal of the American College of Nutrition* 28 (5):553-64.
- Millet, Grégoire. 2006. *L'endurance*. Paris: Revue EPS.
- Millet, Grégoire P., Raphael Faiss, et Vincent Pialoux. 2012. « Point: Counterpoint: Hypobaric Hypoxia Induces/Does Not Induce Different Responses from Normobaric Hypoxia ». *Journal of Applied Physiology* 112 (10):1783-84.
<https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00067.2012>.
- Millet, Grégoire, Laurent Schmitt, Jean-Paul Richalet, et Claude Fauquet. 2011. *S'entraîner en altitude: mécanismes, méthodes, exemples, conseils pratiques*. Bruxelles, Belgique: De Boeck, DL 2011.
- Mollard, Pascal, Nicolas Bourdillon, Muriel Letournel, Harold Herman, Stéphanie Gibert, Aurélien Pichon, Xavier Woorons, et Jean-Paul Richalet. 2010. « Validity of arterialized earlobe blood gases at rest and exercise in normoxia and hypoxia ». *Respiratory Physiology & Neurobiology* 172 (3):179-83.
<https://doi.org/10.1016/j.resp.2010.05.017>.
- Mollard, Pascal, X Woorons, M Letournel, J Cornolo, C Lamberto, M Beaudry, et J-P Richalet. 2007. « Role of Maximal Heart Rate and Arterial O₂ Saturation on the Decrement of VO₂max in Moderate Acute Hypoxia in Trained and Untrained Men ». *International Journal of Sports Medicine* 28 (3):186-92. <https://doi.org/10.1055/s-2006-924215>.
- Mollard, Pascal, Xavier Woorons, Sophie Antoine-Jonville, Luce Jutand, Jean Paul Richalet, Fabrice Favret, et Aurélien Pichon. 2008. « 'Oxygen uptake efficiency slope' in trained and untrained subjects exposed to hypoxia ». *Respiratory Physiology & Neurobiology* 161 (2):167-73. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2008.01.006>.

- Mollard, Pascal, Xavier Woorons, Muriel Letournel, Christine Lamberto, Fabrice Favret, Aurélien Pichon, Michèle Beaudry, et Jean-Paul Richalet. 2007. « Determinants of Maximal Oxygen Uptake in Moderate Acute Hypoxia in Endurance Athletes ». *European Journal of Applied Physiology* 100 (6):663-73. <https://doi.org/10.1007/s00421-007-0457-0>.
- Morris, Ciara, Colm O. Grada, Miriam Ryan, Helen M. Roche, Giuseppe De Vito, Michael J. Gibney, Eileen R. Gibney, et Lorraine Brennan. 2013. « The Relationship between Aerobic Fitness Level and Metabolic Profiles in Healthy Adults ». *Molecular Nutrition & Food Research* 57 (7):1246-54. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201200629>.
- Nicholson, J. K., J. C. Lindon, et E. Holmes. 1999. « “Metabonomics”: understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data ». *Xenobiotica* 29 (11):1181-89. <https://doi.org/10.1080/004982599238047>.
- Nicholson, J. K., J. A. Timbrell, et P. J. Sadler. 1985. « Proton NMR Spectra of Urine as Indicators of Renal Damage. Mercury-Induced Nephrotoxicity in Rats. » *Molecular Pharmacology* 27 (6):644-51.
- Nicholson, Jeremy K., John Connelly, John C. Lindon, et Elaine Holmes. 2002. « Metabonomics: A Platform for Studying Drug Toxicity and Gene Function ». *Nature Reviews. Drug Discovery* 1 (2):153-61. <https://doi.org/10.1038/nrd728>.
- Nicholson, Jeremy K., et Ian D. Wilson. 1989. « High resolution proton magnetic resonance spectroscopy of biological fluids ». *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* 21 (4):449-501. [https://doi.org/10.1016/0079-6565\(89\)80008-1](https://doi.org/10.1016/0079-6565(89)80008-1).
- Nielsen, J., D. Bertrand, E. Micklander, P. Courcoux, et L. Munck. 2001. « Study of NIR spectra, particle size distributions and chemical parameters of wheat flours: a multi-way approach ». *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 9 (1):275.
- Nieman, David C., Nicholas D. Gillitt, Dru A. Henson, Wei Sha, R. Andrew Shanely, Amy M. Knab, Lynn Cialdella-Kam, et Fuxia Jin. 2012. « Bananas as an Energy Source during Exercise: A Metabolomics Approach ». *PLoS ONE* 7 (5):e37479. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037479>.
- Noakes, Timothy D., Juha E. Peltonen, et Heikki K. Rusko. 2001. « Evidence That a Central Governor Regulates Exercise Performance during Acute Hypoxia and Hyperoxia ». *Journal of Experimental Biology* 204 (18):3225-34.
- N. Triba, Mohamed, Laurence Le Moyec, Roland Amathieu, Corentine Goossens, Nadia Bouchemal, Pierre Nahon, Douglas N. Rutledge, et Philippe Savarin. 2015. « PLS/OPLS Models in Metabolomics: The Impact of Permutation of Dataset Rows on the K-Fold Cross-Validation Quality Parameters ». *Molecular BioSystems* 11 (1):13-19. <https://doi.org/10.1039/C4MB00414K>.
- Oliver, Stephen G., Michael K. Winson, Douglas B. Kell, et Frank Baganz. 1998. « Systematic functional analysis of the yeast genome ». *Trends in Biotechnology* 16 (9):373-78. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(98\)01214-1](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(98)01214-1).

- Park, So-Young, Yong-Woon Kim, Ji-Eun Kim, et Jong-Yeon Kim. 2006. « Age-associated changes in fat metabolism in the rat and its relation to sympathetic activity ». *Life Sciences* 79 (23):2228-33. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2006.07.014>.
- Parry-Billings, M., E. Blomstrand, N. McAndrew, et E. Newsholme. 1990. « A Communicational Link Between Skeletal Muscle, Brain, and Cells of the Immune System ». *International Journal of Sports Medicine* 11 (S 2):S122-28. <https://doi.org/10.1055/s-2007-1024863>.
- Pascal, Blaise (1623-1662) Auteur du texte, et Florent (16-16) Auteur du texte Perier. 1648. *Récit de la grande expérience de l'équilibre des liqueurs, projetée par le sieur B. P. [Blaise Pascal] pour l'accomplissement du traicté qu'il a promis dans son abrégé touchant le vuide, et faite par le sieur F. P. [Florent Perier] en une des plus hautes montagnes d'Auvergne.* Paris: C. Savreux (. <http://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k105083f>.
- Paul Bert. 1878. *La pression barométrique: recherches de physiologie expérimentale.* Masson. <http://archive.org/details/lapressionbarom00bertgoog>.
- Pechlivanis, Alexandros, Sarantos Kostidis, Ploutarchos Saraslanidis, Anatoli Petridou, George Tsalis, Vassilis Mougios, Helen G. Gika, Emmanuel Mikros, et Georgios A. Theodoridis. 2010. « ¹H NMR-Based Metabonomic Investigation of the Effect of Two Different Exercise Sessions on the Metabolic Fingerprint of Human Urine ». *Journal of Proteome Research* 9 (12):6405-16. <https://doi.org/10.1021/pr100684t>.
- Pechlivanis, Alexandros, Sarantos Kostidis, Ploutarchos Saraslanidis, Anatoli Petridou, George Tsalis, Kirill Veselkov, Emmanuel Mikros, Vassilis Mougios, et Georgios A. Theodoridis. 2013. « ¹H NMR Study on the Short- and Long-Term Impact of Two Training Programs of Sprint Running on the Metabolic Fingerprint of Human Serum ». *Journal of Proteome Research* 12 (1):470-80. <https://doi.org/10.1021/pr300846x>.
- Peltonen, J. E., A. P. Leppävuori, K. P. Kyrö, P. Mäkelä, et H. K. Rusko. 1999. « Arterial Haemoglobin Oxygen Saturation Is Affected by F(I)O₂ at Submaximal Running Velocities in Elite Athletes ». *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports* 9 (5):265-71.
- Peltonen, J. E., J. Rantamäki, S. P. Niittymäki, K. Sweins, J. T. Viitasalo, et H. K. Rusko. 1995. « Effects of Oxygen Fraction in Inspired Air on Rowing Performance ». *Medicine and Science in Sports and Exercise* 27 (4):573-79.
- Peltonen, J. E., H. K. Rusko, J. Rantamäki, K. Sweins, S. Niittymäki, et J. T. Viitasalo. 1997. « Effects of Oxygen Fraction in Inspired Air on Force Production and Electromyogram Activity during Ergometer Rowing ». *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* 76 (6):495-503. <https://doi.org/10.1007/s004210050281>.
- Peltonen, J. E., H. O. Tikkanen, et H. K. Rusko. 2001. « Cardiorespiratory Responses to Exercise in Acute Hypoxia, Hyperoxia and Normoxia ». *European Journal of Applied Physiology* 85 (1-2):82-88.

- Penaloza, Dante, et Javier Arias-Stella. 2007. « The Heart and Pulmonary Circulation at High Altitudes: Healthy Highlanders and Chronic Mountain Sickness ». *Circulation* 115 (9):1132-46. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.624544>.
- Péronnet, F., G. Thibault, et D. L. Cousineau. 1991. « A Theoretical Analysis of the Effect of Altitude on Running Performance ». *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 70 (1):399-404.
- Phinney, S. D., B. R. Bistrian, W. J. Evans, E. Gervino, et G. L. Blackburn. 1983. « The Human Metabolic Response to Chronic Ketosis without Caloric Restriction: Preservation of Submaximal Exercise Capability with Reduced Carbohydrate Oxidation ». *Metabolism: Clinical and Experimental* 32 (8):769-76.
- Plumb, Robert, Jennifer Granger, Chris Stumpf, Ian D. Wilson, Julie A. Evans, et Eva M. Lenz. 2003. « Metabonomic Analysis of Mouse Urine by Liquid-Chromatography-Time of Flight Mass Spectrometry (LC-TOFMS): Detection of Strain, Diurnal and Gender Differences ». *Analyst* 128 (7):819-23. <https://doi.org/10.1039/B304296K>.
- Podolsky, A., M. W. Eldridge, R. S. Richardson, D. R. Knight, E. C. Johnson, S. R. Hopkins, D. H. Johnson, et al. 1996. « Exercise-Induced VA/Q Inequality in Subjects with Prior High-Altitude Pulmonary Edema ». *Journal of Applied Physiology* 81 (2):922-32.
- Poortmans, J, et N Boisseau. 2003. *Biochimie des activités physiques*. De Boeck ed. Bruxelles.
- Poortmans, J. R. 2004. « Protein Metabolism » 46:227-78. <https://doi.org/10.1159/000074370>.
- Qannari, El Mostafa, Ian Wakeling, Philippe Courcoux, et Halliday J. H MacFie. 2000. « Defining the underlying sensory dimensions ». *Food Quality and Preference* 11 (1):151-54. [https://doi.org/10.1016/S0950-3293\(99\)00069-5](https://doi.org/10.1016/S0950-3293(99)00069-5).
- Ra, Song-Gyu, Seiji Maeda, Ryota Higashino, Tomoko Imai, et Shumpei Miyakawa. 2014. « Metabolomics of Salivary Fatigue Markers in Soccer Players after Consecutive Games ». *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism = Physiologie Appliquée, Nutrition Et Metabolisme* 39 (10):1120-26. <https://doi.org/10.1139/apnm-2013-0546>.
- Reaves, Marshall Louis, et Joshua D Rabinowitz. 2011. « Metabolomics in systems microbiology ». *Current Opinion in Biotechnology, Analytical biotechnology*, 22 (1):17-25. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2010.10.001>.
- Reeves, J. T., B. M. Groves, J. R. Sutton, P. D. Wagner, A. Cymerman, M. K. Malconian, P. B. Rock, P. M. Young, et C. S. Houston. 1987. « Operation Everest II: Preservation of Cardiac Function at Extreme Altitude ». *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 63 (2):531-39.
- Reeves, J. T., R. S. Mazzeo, E. E. Wolfel, et A. J. Young. 1992. « Increased Arterial Pressure after Acclimatization to 4300 m: Possible Role of Norepinephrine ». *International Journal of Sports Medicine* 13 Suppl 1 (octobre):S18-21. <https://doi.org/10.1055/s-2007-1024581>.

- Reid, L. M. 1986. « Structure and Function in Pulmonary Hypertension. New Perceptions ». *Chest* 89 (2):279-88.
- Rice, Anthony J., Andrew T. Thornton, Christopher J. Gore, Garry C. Scroop, Hugh W. Greville, Harrieth Wagner, Peter D. Wagner, et Susan R. Hopkins. 1999. « Pulmonary Gas Exchange during Exercise in Highly Trained Cyclists with Arterial Hypoxemia ». *Journal of Applied Physiology* 87 (5):1802-12.
- Richalet, J. P., J. L. Le-Trong, C. Rathat, P. Merlet, P. Bouissou, A. Keromes, et P. Veyrac. 1989. « Reversal of Hypoxia-Induced Decrease in Human Cardiac Response to Isoproterenol Infusion ». *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 67 (2):523-27.
- Richalet, J. P., P. Robach, S. Jarrot, J. C. Schneider, N. P. Mason, E. Cauchy, J. P. Herry, A. Bienvenu, B. Gardette, et C. Gortan. 1999. « Operation Everest III (COMEX '97). Effects of Prolonged and Progressive Hypoxia on Humans during a Simulated Ascent to 8,848 M in a Hypobaric Chamber ». *Advances in Experimental Medicine and Biology* 474:297-317.
- Richard, Normand A., et Michael S. Koehle. 2012. « Differences in Cardio-Ventilatory Responses to Hypobaric and Normobaric Hypoxia: A Review ». *Aviation, Space, and Environmental Medicine* 83 (7):677-84.
- Richardson, R S, E A Noyszewski, K F Kendrick, J S Leigh, et P D Wagner. 1995. « Myoglobin O₂ Desaturation during Exercise. Evidence of Limited O₂ Transport ». *The Journal of Clinical Investigation* 96 (4):1916-26. <https://doi.org/10.1172/JCI118237>.
- Roach, R. C., J. A. Loeppky, et M. V. Icenogle. 1996. « Acute Mountain Sickness: Increased Severity during Simulated Altitude Compared with Normobaric Hypoxia ». *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 81 (5):1908-10.
- Roberts, A. C., G. E. Butterfield, A. Cymerman, J. T. Reeves, E. E. Wolfel, et G. A. Brooks. 1996a. « Acclimatization to 4,300-m Altitude Decreases Reliance on Fat as a Substrate ». *Journal of Applied Physiology* 81 (4):1762-71.
- Roberts, A. C., J. T. Reeves, G. E. Butterfield, R. S. Mazzeo, J. R. Sutton, E. E. Wolfel, et G. A. Brooks. 1996. « Altitude and Beta-Blockade Augment Glucose Utilization during Submaximal Exercise ». *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 80 (2):605-15.
- Roberts, T. J., J. M. Weber, H. Hoppeler, E. R. Weibel, et C. R. Taylor. 1996. « Design of the Oxygen and Substrate Pathways. II. Defining the Upper Limits of Carbohydrate and Fat Oxidation ». *The Journal of Experimental Biology* 199 (Pt 8):1651-58.
- Robertson, Donald G., Paul B. Watkins, et Michael D. Reily. 2011. « Metabolomics in Toxicology: Preclinical and Clinical Applications ». *Toxicological Sciences* 120 (suppl_1):S146-70. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfq358>.
- Sabatine, Marc S., Emerson Liu, David A. Morrow, Eric Heller, Robert McCarroll, Roger Wiegand, Gabriel F. Berriz, Frederick P. Roth, et Robert E. Gerszten. 2005. « Metabolomic Identification of Novel Biomarkers of Myocardial Ischemia ».

- Circulation* 112 (25):3868-75.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.569137>.
- Saltin, B, Robert F. Grover, C. Gunnar Blomqvist, L. Howard Hartley, et Robert L. Johnson. 1968. « Maximal Oxygen Uptake and Cardiac Output after 2 Weeks at 4,300 M ». *Journal of Applied Physiology* 25 (4):400-409.
- Saugy, Jonas J., Laurent Schmitt, Roberto Cejuela, Raphael Faiss, Anna Hauser, Jon P. Wehrlin, Benjamin Rudaz, Audric Delessert, Neil Robinson, et Grégoire P. Millet. 2014. « Comparison of “Live High-Train Low” in Normobaric versus Hypobaric Hypoxia ». *PLoS One* 9 (12):e114418. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114418>.
- Savorani, F., G. Tomasi, et S. B. Engelsen. 2010. « Icoshift: A Versatile Tool for the Rapid Alignment of 1D NMR Spectra ». *Journal of Magnetic Resonance (San Diego, Calif.: 1997)* 202 (2):190-202. <https://doi.org/10.1016/j.jmr.2009.11.012>.
- Savorani, F., G. Tomasi, et S. B. Engelsen. 2013. « Alignment of 1D NMR Data Using the ICosshift Tool: A Tutorial ». In *Magnetic Resonance in Food Science*, 14-24. <https://doi.org/10.1039/9781849737531-00014>.
- Savoirey, Gustave, Jean-Claude Launay, Yves Besnard, Angélique Guinet, et Stéphane Travers. 2003. « Normo- and Hypobaric Hypoxia: Are There Any Physiological Differences? » *European Journal of Applied Physiology* 89 (2):122-26. <https://doi.org/10.1007/s00421-002-0789-8>.
- Sawka, Michael N., Samuel N. Cheuvront, et Robert W. Kenefick. 2012. « High Skin Temperature and Hypohydration Impair Aerobic Performance ». *Experimental Physiology* 97 (3):327-32. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2011.061002>.
- Schoene, R. B. 1997. « Control of Breathing at High Altitude ». *Respiration; International Review of Thoracic Diseases* 64 (6):407-15.
- Schoene, Robert B. 2005. « Limits of Respiration at High Altitude ». *Clinics in Chest Medicine, The Lung in Extreme Environments*, 26 (3):405-14. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2005.06.015>.
- Schommer, Kai, Neele Wiesegeart, Elmar Menold, Ute Haas, Katrin Lahr, Hermann Buhl, Peter Bärtsch, et Christoph Dehnert. 2010. « Training in Normobaric Hypoxia and Its Effects on Acute Mountain Sickness after Rapid Ascent to 4559 M ». *High Altitude Medicine & Biology* 11 (1):19-25. <https://doi.org/10.1089/ham.2009.1019>.
- Shepherd, Louise Vt, Paul Fraser, et Derek Stewart. 2011. « Metabolomics: A Second-Generation Platform for Crop and Food Analysis ». *Bioanalysis* 3 (10):1143-59. <https://doi.org/10.4155/bio.11.61>.
- Shimizu, Muneshige, Ken Miyagawa, Soh Iwashita, Tsuneyuki Noda, Koichiro Hamada, Hirokazu Genno, et Hiroshi Nose. 2011. « Energy Expenditure during 2-Day Trail Walking in the Mountains (2,857 m) and the Effects of Amino Acid Supplementation in Older Men and Women ». *European Journal of Applied Physiology* 112 (3):1077-86. <https://doi.org/10.1007/s00421-011-2057-2>.

- Sime, F., D. Penaloza, L. Ruiz, N. Gonzales, E. Covarrubias, et R. Postigo. 1974. « Hypoxemia, Pulmonary Hypertension, and Low Cardiac Output in Newcomers at Low Altitude ». *Journal of Applied Physiology* 36 (5):561-65.
- Squires, R. W., et E. R. Buskirk. 1982. « Aerobic Capacity during Acute Exposure to Simulated Altitude, 914 to 2286 Meters ». *Medicine and Science in Sports and Exercise* 14 (1):36-40.
- Stenberg, J., B. Ekblom, et R. Messin. 1966. « Hemodynamic Response to Work at Simulated Altitude, 4,000 M ». *Journal of Applied Physiology* 21 (5):1589-94.
- Stowhas, Anne-Christin, Tsogyal D. Latshang, Christian M. Lo Cascio, Sina Lautwein, Katrin Stadelmann, Noemi Tesler, Lisa Ayers, et al. 2013. « Effects of Acute Exposure to Moderate Altitude on Vascular Function, Metabolism and Systemic Inflammation ». *PLoS ONE* 8 (8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070081>.
- Strauss, Maurice B., Robert K. Davis, Jack D. Rosenbaum, et Elsie C. Rossmeisl. 1951. « "WATER DIURESIS" PRODUCED DURING RECUMBENCY BY THE INTRAVENOUS INFUSION OF ISOTONIC SALINE SOLUTION 1 ». *Journal of Clinical Investigation* 30 (8):862-68.
- Stream, Joshua O., et Colin K. Grissom. 2008. « Update on High-Altitude Pulmonary Edema: Pathogenesis, Prevention, and Treatment ». *Wilderness & Environmental Medicine* 19 (4):293-303. <https://doi.org/10.1580/07-WEME-REV-173.1>.
- Sutton, J. R., J. T. Reeves, P. D. Wagner, B. M. Groves, A. Cymerman, M. K. Malconian, P. B. Rock, P. M. Young, S. D. Walter, et C. S. Houston. 1988. « Operation Everest II: Oxygen Transport during Exercise at Extreme Simulated Altitude ». *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 64 (4):1309-21.
- Tissot van Patot, Martha C., Natalie J. Serkova, Manuel Haschke, Douglas J. Kominsky, Robert C. Roach, Uwe Christians, Thomas K. Henthorn, et Benjamin Honigman. 2009. « Enhanced Leukocyte HIF-1alpha and HIF-1 DNA Binding in Humans after Rapid Ascent to 4300 M ». *Free Radical Biology & Medicine* 46 (11):1551-57. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.03.009>.
- Tomasi, Giorgio, Francesco Savorani, et Søren B. Engelsen. 2011. « Icoshift: An Effective Tool for the Alignment of Chromatographic Data ». *Journal of Chromatography. A* 1218 (43):7832-40. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.08.086>.
- Torre-Bueno, J. R., P. D. Wagner, H. A. Saltzman, G. E. Gale, et R. E. Moon. 1985. « Diffusion Limitation in Normal Humans during Exercise at Sea Level and Simulated Altitude ». *Journal of Applied Physiology* 58 (3):989-95.
- Trivedi, N. S., A. F. Ghouri, E. Lai, N. K. Shah, et S. J. Barker. 1997. « Pulse Oximeter Performance during Desaturation and Resaturation: A Comparison of Seven Models ». *Journal of Clinical Anesthesia* 9 (3):184-88.
- Trygg, Johan, et Svante Wold. 2002. « Orthogonal Projections to Latent Structures (O-PLS) ». *Journal of Chemometrics* 16 (3):119-28. <https://doi.org/10.1002/cem.695>.

- Vallier, J. M., A. X. Bigard, F. Carré, J. P. Eclache, et J. Mercier. 2000. « Détermination des seuils lactiques et ventilatoires. Position de la Société française de médecine du sport ». *Science & Sports* 15 (3):133-40. [https://doi.org/10.1016/S0765-1597\(00\)80017-9](https://doi.org/10.1016/S0765-1597(00)80017-9).
- Wagner, P D. 2000. « Reduced Maximal Cardiac Output at Altitude--Mechanisms and Significance ». *Respiration Physiology* 120 (1):1-11.
- Wagner, P. D., G. E. Gale, R. E. Moon, J. R. Torre-Bueno, B. W. Stolp, et H. A. Saltzman. 1986. « Pulmonary Gas Exchange in Humans Exercising at Sea Level and Simulated Altitude ». *Journal of Applied Physiology* 61 (1):260-70.
- Wagner, P. D., J. R. Sutton, J. T. Reeves, A. Cymerman, B. M. Groves, et M. K. Malconian. 1987. « Operation Everest II: Pulmonary Gas Exchange during a Simulated Ascent of Mt. Everest ». *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 63 (6):2348-59.
- Wagner, Peter D., Mauricio Araoz, Robert Boushel, José A. L. Calbet, Birgitte Jessen, Göran Rådegran, Hilde Spielvogel, Hans Søndegaard, Harrieth Wagner, et Bengt Saltin. 2002. « Pulmonary Gas Exchange and Acid-Base State at 5,260 m in High-Altitude Bolivians and Acclimatized Lowlanders ». *Journal of Applied Physiology* 92 (4):1393-1400. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00093.2001>.
- Walsh, Marianne C., Lorraine Brennan, J. Paul G. Malthouse, Helen M. Roche, et Michael J. Gibney. 2006. « Effect of Acute Dietary Standardization on the Urinary, Plasma, and Salivary Metabolomic Profiles of Healthy Humans ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 84 (3):531-39.
- Wasserman, K., B. J. Whipp, S. N. Koyl, et W. L. Beaver. 1973. « Anaerobic Threshold and Respiratory Gas Exchange during Exercise. » *Journal of Applied Physiology* 35 (2):236-43.
- Weber, et Haman. s. d. « Oxidative fuel selection: adjusting mix and flux to stay alive - ScienceDirect ». Consulté le 28 juillet 2017. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0531513104015432>.
- Weber, Jean-Michel. 2011. « Metabolic Fuels: Regulating Fluxes to Select Mix ». *The Journal of Experimental Biology* 214 (Pt 2):286-94. <https://doi.org/10.1242/jeb.047050>.
- Wehrlin, Jon Peter, et Jostein Hallén. 2006. « Linear Decrease in VO₂max and Performance with Increasing Altitude in Endurance Athletes ». *European Journal of Applied Physiology* 96 (4):404-12. <https://doi.org/10.1007/s00421-005-0081-9>.
- West, John B. 2005. « Robert Boyle's Landmark Book of 1660 with the First Experiments on Rarified Air ». *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 98 (1):31-39. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00759.2004>.
- Westerhuis, Johan A., Ewoud JJ van Velzen, Huub CJ Hoefsloot, et Age K. Smilde. 2010. « Multivariate paired data analysis: multilevel PLSDA versus OPLSDA ». *Metabolomics* 6 (1):119-128.

- Williams, Rebecca E., Eva M. Lenz, Julie A. Evans, Ian D. Wilson, Jennifer H. Granger, Robert S. Plumb, et Chris L. Stumpf. 2005. « A combined ¹H NMR and HPLC–MS-based metabonomic study of urine from obese (fa/fa) Zucker and normal Wistar-derived rats ». *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 38 (3):465–71. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2005.01.013>.
- Wilmore, Jack H., David L. Costill, et Larry Kenney. 2017. *Physiologie du sport et de l'exercice*. De Boeck Supérieur.
- Wishart, David S. 2007. « Current Progress in Computational Metabolomics ». *Briefings in Bioinformatics* 8 (5):279–93. <https://doi.org/10.1093/bib/bbm030>.
- Wolfel, E. E., B. M. Groves, G. A. Brooks, G. E. Butterfield, R. S. Mazzeo, L. G. Moore, J. R. Sutton, P. R. Bender, T. E. Dahms, et R. E. McCullough. 1991. « Oxygen Transport during Steady-State Submaximal Exercise in Chronic Hypoxia ». *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 70 (3):1129–36.
- Wyss, Christophe A., Pascal Koepfli, Gregory Fretz, Magdalena Seebauer, Christian Schirlo, et Philipp A. Kaufmann. 2003. « Influence of Altitude Exposure on Coronary Flow Reserve ». *Circulation* 108 (10):1202–7. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000087432.63671.2E>.
- Yan, Bei, Jiye A, Guangji Wang, Huali Lu, Xiaoping Huang, Yi Liu, Weibin Zha, et al. 2009. « Metabolomic Investigation into Variation of Endogenous Metabolites in Professional Athletes Subject to Strength-Endurance Training ». *Journal of Applied Physiology* 106 (2):531–38. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.90816.2008>.
- Zahariev, Alexandre, Audrey Bergouignan, Michel Caloin, Sylvie Normand, Guillemette Gauquelin-Koch, Claude Gharib, et Stéphane Blanc. 2005. « Skinfold Thickness versus Isotope Dilution for Body Fat Assessment during Simulated Microgravity: Results from Three Bed-Rest Campaigns in Men and Women with and without Countermeasures ». *European Journal of Applied Physiology* 95 (4):344–50. <https://doi.org/10.1007/s00421-005-0021-8>.

Annexes

Annexe 1 Localisation des centres d'entraînement en altitude

Ville	Pays	Altitude (m)
Premanon	France	1200
Tredbo	Australie	1365
Crans Montana	Suisse	1500
Albuquerque	USA	1525
Fort Collins	USA	1525
Potchefstroom	Afrique du sud	1550
Snow Farm	Nouvelle Zélande	1560
Davos	Suisse	1560
Issyk-Kull	Kirghizistan	1600
Machacos	Kenya	1600
Denver	USA	1610
Medeo	Kazakhstan	1691
Tamga	Kirghizistan	1700
Boulder	USA	1770
Ifrane	Maroc	1820
Saint Moritz	Suisse	1820
Nairobi	Kenya	1840
Font Romeu	France	1850
Colorado Springs	USA	1860
Kunming	Chine	1895
Pontresina	Suisse	1900
Zetersfeld/Linz	Autriche	1950
Kapsabet	Kenya	1950
Piatra Arsa	Roumanie	1950
Tzahkadzor	Arménie	1970
Belmeken	Bulgarie	2000
Kazenoy-Am	Russie	2000
Nandi Hills	Kenya	2000
N'gong Hills	Kenya	2000
Sestriere	Italie	2035
Eldoret	Kenya	2100
Flagstaff	USA	2134
Kipkabus	Kenya	2200
Los Alamos	USA	2208
Quito	Equateur	2218
Iten	Kenya	2300
Alamosa	USA	2300
Mexico	Mexique	2300
Sierra Nevada	Espagne	2320
Nyahururu	Kenya	2350
Addis Abada	Ethiopie	2400
Park City, Utah	USA	2440
Mammoth Lake	USA	2440
Bogota	Colombie	2500
Toluca	Mexique	2700
La Paz	Bolivie	3100

Annexe 2 : Article accepté

The impact of moderate altitude on exercise metabolism in recreational sportsmen: a nuclear magnetic resonance metabolomic approach. Messier Florian M, Laurence Le Moyec, Carole Santi, Anne-Fleur Gaston, Mohamed N Triba, Emma Roca, and Fabienne Durand. 2017. Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism, juin. doi:10.1139/apnm-2016-0717.

The impact of moderate altitude on exercise metabolism in recreational sportsmen: a nuclear magnetic resonance metabolomic approach

Florian M Messier^{a,*}, Laurence Le Moyec^b, Carole Santi^a, Anne-Fleur Gaston^a, Mohamed N. Triba^c, Emma Roca^{a,d}, Fabienne Durand^a

^a Laboratoire Européen Performance Santé Altitude EA4604 - Université de Perpignan Via Domitia, Département STAPS, 7 Avenue Pierre de Coubertin, Font-Romeu, France

^b Unité de Biologie Intégrative et Adaptation à l'Exercice, EA 7362, Université d'Evry Val D'Essonne, Evry, France

^c Chimie Structures Propriétés de Biomatériaux et d'Agents Thérapeutiques, CNRS UMR 7244, Université Paris 13 Sorbonne Paris Cité, Bobigny, France

^d Facultat de Medicina, Universitat de Girona, C/ Emili Grahit 77, Girona, Spain

*Corresponding author:

Tel.: + 33 468 308074

E-mail address: florian.messier@univ-perp.fr

Abstract

Although it is known that altitude impairs performance in endurance sports, there is no consensus on the involvement of energy substrates in this process. The objective of the present study was to determine whether the metabolomic pathways used during endurance exercise differ according to whether the effort is performed at SL or at moderate ALT (at the same exercise intensity, using proton nuclear magnetic resonance, ^1H NMR). Twenty subjects performed two 60-min endurance exercise tests at sea level and at 2150 m at identical relative intensity on a cycle ergometer. Blood plasma was obtained from venous blood samples drawn before and after exercise. Proton NMR spectral analysis was then performed on the plasma samples. A multivariate statistical technique was applied to the NMR data. The respective relative intensities of the sea level and altitude endurance tests were essentially the same when expressed as a percentage of the VO_2max measured during the corresponding incremental maximal exercise test. Lipid use was similar at sea level and at altitude. In the plasma, levels of glucose, glutamine, alanine and branched-chain amino acids had decreased after exercise at altitude but not after exercise at sea level. The decrease in plasma glucose and free amino acid levels observed after exercise at altitude indicated that increased involvement of the protein pathway was necessary but not sufficient for the maintenance of glycaemia. Metabolomics is a powerful means of gaining insight into the metabolic changes induced by exercise at altitude.

Keywords: Altitude, exercise, metabolomics, nuclear magnetic resonance, plasma, metabolism.

I Introduction

It is well known that altitude impairs performance in endurance sports, despite the presence of many inter-individual differences related to the magnitude of the altitude, the degree of acclimatization, endurance training status and probably other parameters that have yet to be identified (Keys et al. 1936, Gore et al. 1996, Mollard et al. 2007). Although performance is the result of a complex combination of physiological parameters, substrate use has a major role in endurance sport.

Several groups of researchers have investigated substrate use at high altitudes (3000-4300 m) or during severe hypoxia at sea level (SL); however, these literature data are contradictory. At the same absolute work rate, carbohydrate use was reportedly higher during exercise at high altitude (4300 m) than during exercise at SL (Brooks et al. 1991, Roberts et al. 1996). In contrast, a few studies have observed that high altitude or severe hypoxia has no influence on carbohydrate use (Bouissou et al. 1987, Lundby and Van Hall 2002). However, the interpretation of these findings is complicated by the use of a higher relative intensity of exercise at altitude, which would tend to increase reliance on glucose as a fuel (Brooks and Mercier 1994, Beidleman et al. 2002, Mazzeo 2008). During exercise at altitude, carbohydrate might contribute more to the total energy yield because free fatty acid oxidation requires more oxygen per ATP molecule synthesized than the complete oxidation of carbohydrates (Hinkle et al. 1991).

Despite the fact that many popular endurance sports (such cross-country skiing, ski mountaineering and trail running) are performed at moderate altitudes (*i.e.* at between 2000 and 3000 meters above SL), few studies have been performed in this setting. Furthermore, most sports training camps take place located at moderate altitude. In fact, substrate use at moderate altitude has not been extensively investigated. The results of a study by Katayama et al. (2010) suggested that carbohydrate use is higher during exercise at 50% of VO_2max performed at a simulated altitude of 2000 m than the same exercise during normoxia (at the same relative intensity). Furthermore, the intensity applied by Katayama et al. (2010) (50% of VO_2max) is also relatively low for endurance exercise in the field. Indeed, it is well known that the intensity of endurance training is usually situated between the first ventilatory threshold (VT1, *i.e.* 40-60% of VO_2max) and the second first ventilatory threshold (*i.e.* 60-90% of VO_2max) (Hawley et al. 1997).

Another point relates to the small number of key metabolites assayed in the majority of studies seeking to test specific biochemical hypotheses (Braun et al. 2000, Katayama et al. 2010). It is well known that metabolic pathways such as glycolysis and lipolysis interacted significantly through a large number of metabolites. Hence, we hypothesized that gaining a comprehensive view of the metabolome and its modulation by exercise at moderate altitude might help to reveal the underlying mechanism and novel (possibly unexpected) markers of performance and metabolic adaptation to hypoxia. This approach is possible with metabolomic techniques, *i.e.* the identification and quantification of a large set of metabolites present in living organisms (Wilson 2008). Recent research on human subjects and animal models has generated fascinating metabolomic data on strenuous endurance exercise (Pohjanen et al. 2007, Lewis et al. 2010), strength-endurance training (Yan et al. 2009), vigorous exercise, the effect of a specific diet on exercise performance (Kirwan et al. 2009) and the effect of the post-exercise ingestion of rehydration drinks (Chorell et al. 2009, Miccheli et al. 2009). Most recently, a

metabolomic study by Lou et al. (2014) found changes in energy pathways (lipid metabolism) at altitudes of 3000-4000 m in six healthy, sedentary men. Along with mass spectrometry, nuclear magnetic resonance (NMR) is the main analytical tool used for metabolite fingerprinting (Lenz and Wilson 2007). NMR also has major advantages for untargeted metabolite profiling, including robustness, identification power, repeatability and reproducibility (Dumas et al. 2006).

In this context, the objective of the present study was to determine whether the metabolomic pathways used during endurance exercise differ according to whether the effort is performed at SL or at moderate ALT (at the same exercise intensity). We used ^1H NMR spectroscopy to determine the metabolomic profiles of plasma samples from recreational sportsmen and assessed the profiles' relationship with cardiorespiratory data. We hypothesised that because the partial pressure of inspired oxygen (O_2) falls with altitude, endurance exercise at moderate altitude would elicit greater metabolic disturbances (i.e. a greater pre- vs. post- exercise difference in the metabolomic profile) than the same relative exercise intensity at sea level.

II Methods

Participants

Twenty healthy male volunteers were included in the study. The mean \pm standard deviation (SD) age, height and body mass were respectively 39 ± 4.3 years, 178 ± 5.3 cm, and 76 ± 9.0 kg. The mean body mass index was 24.3 ± 2.3 , and the mean fat mass was $18.9 \pm 3.6\%$. All the study participants lived at SL and participated in educational or recreational physical activities at low to moderate intensities, in most cases. The participants trained for an average of 9 ± 3 hours per week and have a mean VO_2 max (measured at SL) of $53 \pm 8 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$. None of the participants were smokers, and none were taking medications or vitamin supplements. All were free of infections and cardiopulmonary conditions that would have contraindicated exercise. All the volunteers were informed about the experimental procedures and gave their written, informed consent to participation. The study protocol was approved by the local independent ethics committee (Consell General de l'Esport, Catalunya, Spain).

Study design

In order to control for the effect of nutrition on substrate use during exercise, the participants were told to follow a standardized diet on the day preceding the exercise tests. The dietary plan provided 55% of the energy as carbohydrate, 30% as fat, and 15% as protein. On the morning before exercise testing, the participants were given a standardized meal. All participants performed a test on an ergometer cycle (Racer 9, Kettler, Germany) under two distinct conditions: first at SL and then (two weeks later) at an altitude 2150 meters (ALT).

Firstly, an incremental maximal exercise test was performed in order to determine performance parameters in general and VT_1 in particular, as described by Wasserman et al. 1973. The exercise started with a 3 min warm-up period at 60 W and a pedalling rate of 70 rpm. The workload was then increased by 30 W every minute until exhaustion. The test was considered to be maximal if at least three of the following criteria were met: (i) an increase in VO_2 of <100 ml for the last increment in the work rate, (ii) achievement of the age-predicted maximal heart rate (HR) [$210 - (0.65 \text{ age}) \pm 10\%$], (iii) a respiratory exchange ratio (RER) above 1.1, and (iv) inability to maintain the imposed pedalling rate despite maximal effort and verbal encouragement.

Secondly, 24 h after the incremental maximal exercise test, participants performed a 60-minute endurance exercise test at the previously determined VT_1 . The endurance test began at 60 W for 3 minutes. The intensity was then increased by 30 W every minute until the participant's individual VT_1 was reached. The pedalling rate was kept constant at 70 rpm. During each test, cardiorespiratory parameters and O_2 saturation were continuously recorded.

During the altitude session, the participants arrived at altitude 90 minutes before the maximal effort test (i.e. in the absence of an acclimatization phase). Between the maximal test and the endurance test, the participants were lodged at an altitude of around 1000 m. They then climbed to an altitude of 2150 m 90 minutes before the endurance test. The time interval between the maximum test and the endurance test was never more than 36 hours.

Cardiorespiratory parameters

A breath-by-breath telemetric, portable gas analyzer (K4b2, Cosmed, Rome, Italy) was used to collect the gas exchange data for all tests: oxygen uptake (VO_2 , $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$), RER (VCO_2/VO_2), minute ventilation (VE , $\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$), end-tidal carbon dioxide pressure (PetCO_2 , mmHg), and ventilatory equivalents (VE/VO_2 and VE/VCO_2). Before every test session, the gas analyzer was calibrated according to the manufacturer's specifications, using a 3-l syringe and a gas bottle of known O_2 and CO_2 concentrations (16% and 5%, respectively). Throughout the test, each participant was equipped with a chest belt (Polar Electro, Kempele, Finland) in order to continuously record the HR ($\text{beats}\cdot\text{min}^{-1}$). Blood haemoglobin O_2 saturation (SpO_2) was measured throughout the tests with an oximeter (Nonin Medical Inc., Plymouth, MN, USA) equipped with an ear sensor.

Blood samples

Blood samples were collected from the median cubital vein (in the cubital fossa anterior to the elbow) in a 7 mL lithium-heparin tube before (T_0) each endurance exercise test session and after 60 min at VT1 (T_{60}). At the blood sampling time point at T_{60} , the participants were still pedalling (in order to maintain their effort at VT1). Plasma was separated by centrifugation for 10 min at 2500g and 4°C . The plasma samples were divided into aliquots and stored at -80°C until analysis.

^1H NMR spectroscopy analysis

Plasma samples were thawed at room temperature. 450 μL of plasma were placed in a 5 mm NMR tube, along with 100 μL of deuterium oxide (for field locking). The proton spectra were acquired at 300 K on a 500 MHz Avance III spectrometer (Advance III spectrometer, Bruker, Germany) with a 5 mm reversed QXI Z gradient high resolution probe (Bruker). Free induction decays (FIDs) were acquired using a one-dimensional nuclear Overhauser effect spectroscopy (1D-NOESY) sequence for water suppression, with a 2 s pre-acquisition delay, a 100 ms mixing time and a 90° pulse. The FIDs were collected as 32K complex points in a spectral window of 10000 Hz and 64 transients after four silent scans. The use of a 1D-NOESY sequence does not interfere with the lipid resonance. The FIDs were processed with NMRpipe software. The exponential Fourier transform produced a 0.3 Hz line broadening. Spectra were phased, and a 10-point baseline correction was applied. Each spectrum was calibrated using the alanine signal at 1.48 ppm. The spectral region between -1 ppm and 11 ppm was divided into 12000 spectral buckets (width: 0.001 ppm), using an in-house MATLAB script. The water region (between 4.6 and 5.15 ppm) was excluded. Probabilistic quotient normalization was used to obtain the X matrix for statistical analysis (Dieterle et al. 2006) and correct for concentration effects related to possible dehydration after the race. All variables were autoscaled before multivariate statistical analysis.

Statistical analysis

To compare the plasma spectra at T_0 and T_{60} , models were computed with a paired set of samples from the same participant at SL and at ALT, as described by Westerhuis et al. (2010). Principal component analysis (PCA) and supervised multivariate statistical analysis were performed using in-house MATLAB scripts (Mathworks, Natick,

MA) based on the Trygg and Wold (2002) method, as previously described (Nahon et al. 2012). The ACP was first performed with the X matrix, in order to detect any group separation (based on NMR signal variability and possible outliers). A supervised multivariate statistical technique (orthogonal projection to latent structure (OPLS) analysis) was applied to the NMR data. The model's quality was assessed with regard to the correlation coefficient (R^2Y) and the predictive coefficient (Q^2Y): $R^2Y = 1$ indicates perfect description of the data by the model, whereas $Q^2Y = 1$ indicates perfect predictability. Q^2Y was computed with the "leave-one-out" cross-validation method (N. Triba et al. 2015). A 999-permutation test was also used for internal validation of the OPLS models, i.e. whether the OPLS models built with the samples were significantly better than any other OPLS model obtained by random permutation of the original sample's attributes.

A score plot and a loading plot were used to illustrate the results. In the score-plot, each point represents the projection of an NMR spectrum (and thus a plasma sample) on to the model's predictive component (Tpred, horizontal axis) and first orthogonal component (Torth, vertical axis). The loading plot represents the covariance between the Y-response matrix and the signal intensity of the various spectral domains. Colours were also used in the loading plot, depending on the R value for the correlation between the corresponding bucket intensity and the Y variable. Metabolites were considered as to be discriminant when they corresponded to buckets with $R \geq 0.5$. Spectral regions were then investigated, in order to identify the metabolites responsible for the classification. Metabolites were identified by using the Human Metabolome Database (University of Alberta, Canada; Wishart 2007).

A paired t-test or Wilcoxon's test was used to analyse SL vs. ALT differences in cardiorespiratory parameters. For all tests, the threshold for statistical significance was set to $p < 0.05$. Analyses were conducted using SigmaStat software (version 3.5, Systat Software Inc., San José, CA, USA). Data are quoted as the mean \pm SD.

III Results

Cardiorespiratory parameters

Analysis of the incremental maximal exercise tests revealed a lower VO_2 max and lower peak power at ALT, relative to SL (46 ± 7 vs. 53 ± 8 ml.min⁻¹.kg⁻¹, respectively, $p < 0.05$; and 376 ± 53 vs. 401 ± 61 W, respectively, $p < 0.05$). The ALT vs SL difference in VO_2 max was $-13 \pm 3\%$. The RER during maximal exercise was above 1.1 in each condition and was higher at ALT than at SL (1.26 ± 0.07 vs 1.15 ± 0.04 , respectively; $p < 0.05$).

Performance values measured during the endurance exercise test, at SL and at ALT are reported in Table 1. VO_2 , power output, SpO₂ and HR at 60 min were significantly lower at ALT than at SL – even though the test's relative intensity (expressed as a percentage of VO_2 max measured during the corresponding maximal exercise test) was the same in both settings. VE/VCO₂ and RER were higher at ALT than at SL ($p < 0.05$). VE was essentially the same at ALT and at SL.

Metabolomic results

Figure 1 represents the ACP applied to data after the endurance tests (T0) at SL and at ALT. The ACP probed the homogeneity of the subject's metabolic profile before the test at SL and at ALT. The model was not able to discriminate between SL T0 samples and ALT T0 samples, which indicated that the participants' metabolic profiles were homogeneous before exercise at SL and at ALT. However, two of the samples (an SL sample and an ALT sample for the same participant) were clearly outliers. This participant had a particular diet, including a high proportion of oil-containing foods (such as olives, seeds and nuts). This participant was excluded from subsequent analyses.

The spectra of plasma samples obtained at T0 and T60 at SL were first compared using the paired method. The ACP demonstrated that the SL samples were homogeneous, albeit with a slight separation between T0 samples and T60 samples (Fig 2a). In a comparison of the T0 and T60 spectra at SL, the OPLS model (Fig 2b) displayed good statistical parameters ($R^2Y = 0.977$ and $Q^2Y = 0.726$). The permutation process validated this model, since none of the Q^2T values obtained by permutation was higher than the Q^2Y value obtained with non-permuted data. The loading plot (Fig 2c) indicated the correlation between the spectral regions and prediction axis. The spectral regions with a correlation over $|0.5|$ are listed in Table 2, along with their assignments to metabolites. These regions correspond mainly to the glycerol signal (which was higher at T60 than at T0) and the lipid signal (which was lower at T60 than at T0). Likewise, the ACP demonstrated that the ALT samples were homogeneous, albeit with a slight separation between T0 samples and T60 samples (Fig 3a). In a comparison of the T0 and T60 spectra at ALT, the OPLS model (Fig 3b) displayed good statistical parameters ($R^2Y = 0.990$ and $Q^2Y = 0.756$). Again, the permutation process validated the model. The loading plot (Fig 3c) indicated a correlation between the spectral regions and the prediction axis. The spectral regions with a correlation over $|0.5|$ are listed in Table 2, along with their assignments to metabolites. These regions corresponded mainly to glycerol and lactate signals (which were higher at T60 than at T0) and to lipid, glucose, glutamine, alanine and branched-chain amino acid (BCAA) signals (which were lower at T60 than at T0).

IV Discussion

The objective of the present study was to determine whether the metabolomic pathways used during endurance exercise differed according to whether the effort is performed at SL or at moderate ALT (at the same exercise intensity).

¹H NMR spectroscopy is an efficient, robust, cost-effective metabolomics technique for acquiring metabolic profiles without the need for extensive sample preparation. Here, application of a metabolomic method revealed changes in the three main metabolic pathways (carbohydrate, lipid and protein pathways) induced by exercise at moderate ALT (relative to SL). Previous research (using biochemical methods) had shown partial modulation of these pathways, whereas NMR-based metabolomics simultaneously harvested information on various metabolites in a single spectrum (Gao et al. 2008) – thus facilitating the rapid identification of the metabolic pathways involved in exercise. With regard to inter-individual variations in metabolic profiles during exercise, it is very well known that diet has a major effect (Chorell et al. 2009, Miccheli et al. 2009, Kirwan et al. 2009). In the present study, we reduced (but did not eliminate) inter-individual variability by asking the participants to follow a standardized diet for 24 hours before the exercise sessions and on the day of the tests. We therefore used a paired sample approach to model the data; each participant acted as his own control, thus minimizing intra-individual variations (Westerhuis et al. 2010). Maximal exercise tests at SL and ALT were used to determine VT1, allowing us to minimize bias related to the exercise intensity at SL and at ALT. Our data confirmed that the same degree of physiological stress was present during endurance exercise at SL and ALT, with a similar relative intensity (69% of VO₂max at SL vs 70% at ALT, for VO₂max measured during the incremental maximal exercise test). Our tests at SL and at ALT were not performed in random order. We are aware that the lack of randomization may have influenced test learning. However, the study participants were active recreational athletes who were already familiar with endurance cycling. Given that the ALT test was truly performed at altitude (and not at SL under hyperbaric conditions), logistic constraints prevented us from using the same equipment for exercise sessions and measurements at both SL and at ALT.

As has also been described in the literature, VO₂, power output and SpO₂ during exercise were significantly lower at ALT than at SL (Gore et al. 1996, Gaston et al. 2016). While no difference was observed for the VE during exercise between SL and ALT, VE/VCO₂ was higher and PetCO₂ was lower at ALT when compared to SL - suggesting excessive hyperventilation and poor ventilatory efficiency (Mollard et al. 2007). The RER measured at T60 was greater at ALT than at SL, which is suggestive of greater glucose use at moderate ALT. Nevertheless, the RER may have been influenced by several parameters, such as the pre-test diet and overnight fasting (Jansson 1982, Beidleman et al. 2002). This bias was minimized in the present study because participants ate the same diet for 24 h before each test. Secondly, the RER value depends on the accuracy of indirect calorimetry measurements during exercise. Hyperventilation may lead to the overestimation of tissue CO₂ production (Ferrannini 1988). The elevated VE/VCO₂ at T60 in the ALT test was suggestive of this type of over-estimation. Indeed, this finding agrees with Katayama et al.'s (2010) report of higher RER values during exercise with moderate, normobaric hypoxia (simulating an ALT of 2000 m). In contrast, studies performed at higher ALTs (Lundby and Van Hall

2002 and Bouissou et al. 1987) did not observe any difference in the RER during exercise at the same relative intensity (50 or 60% of VO_2max), when compared with SL.

The NMR metabolomic profiles described above showed that metabolic adaptations to endurance exercise differed at SL and at ALT. Hence, these results confirmed our hypothesis whereby metabolic energy supply pathways differ at SL vs. ALT. The main differences concerned glucose and free amino acid levels but not lipid. Indeed, at the same relative exercise intensity (VT1) at SL and at ALT, lipid use was similar but glucose, glutamine, alanine and BCAA levels were lower in the metabolome profile at T60 at ALT. These metabolites were not discriminant in the OPLS model calculated for the SL test. Likewise, lactate was elevated at ALT – perhaps due (at least in part) to increased glycolysis, as suggested by Katayama et al. (2010).

It is well known that lipids are consumed during moderate endurance exercise (Brooks and Mercier 1994, Horowitz and Klein 2000). An increase in glycerol content results from the release of free fatty acids from triglycerides. Our data did not reveal an SL vs. ALT difference in lipid metabolism. This is in agreement with literature data suggesting that at equivalent relative workloads (as a percentage of VO_2max), lipid substrate use is unchanged during acute and chronic hypoxia (Lundby and Van Hall 2002).

According to the metabolomic profiles, glycaemia fell during the test at ALT but not at SL. In the present study, the RER measured at T60 was also higher at ALT than at SL. Taken as a whole, our results suggest that glucose utilization is greater at ALT. Likewise, Katayama et al. (2010) showed that exercise at moderate relative intensity (50% of VO_2max) at simulated moderate ALT (2000 m) increased carbohydrate use. At higher ALT (4100 m), Lundby and Van Hall (2002) reported that glucose metabolism is the same as at sea level. The ALT tested in our study (*i.e.* 2150 meters) may have been associated with significant levels of hypoxic cellular stress and greater use of glycolytic fibres during exercise - resulting in a fuel shift from lipid oxidation to carbohydrate oxidation. During exercise at ALT, it seems that stable glycaemia could not be maintained by lipid oxidation.

Our metabolomic approach assessed the three main metabolic pathways. The participants' metabolomic profiles also demonstrated that protein pathways were involved in exercise at ALT but not at SL. At SL, Bergström et al. (1985) have found that BCAA muscle concentrations were the same before and after exercise at 50-70% of VO_2max . At ALT, our results agree with Bigard et al.'s (1993) report that repeated, daily sessions of long-duration exercise induced a significant alteration in the plasma amino acid pattern. The lower plasma BCAA, glutamine and alanine levels after exercise at ALT suggest that enhanced proteolysis and/or energy substrate supplementation are required to maintain glycaemia (Levin et al. 1983). Shimizu et al. (2011) have shown that BCAA supplementation has a moderate but useful positive effect on fatigue when trekking at 2750 m. Furthermore, it has been suggested that the decrease in plasma BCAA concentration is one of the causative factors for fatigue during prolonged exercise (Parry-Billings et al. 1990). The potential benefits of dietary BCAA supplementation on improving performance at moderate ALT warrant further investigation.

V Conclusion

Our present results demonstrated that at similar exercise intensity, substrate use during endurance exercise differed between SL and moderate ALT. The metabolic response to exercise was investigated with ^1H NMR spectroscopy of blood plasma samples. It appears that BCAAs were used to maintain glycaemia during endurance exercise at moderate ALT. Further studies should look at whether glucose and/or BCAA supplementation could prevent the fall in glycaemia during exercise at moderate altitude. In view of our present results for invasive (blood plasma) sampling, it would be interesting to see whether non-invasive sampling (e.g. urine sampling) might be of value in assessing human physiological adaptations to training and/or ALT.

VI Acknowledgements

The authors give a special thanks to the subjects for their enthusiastic participation. We also acknowledge our appreciation to Girona Faculty of Medicine and Masella ski resort for their hospitality, Nadia Bouchemal (Université Paris 13) for NMR experiments and processing, Aurélie Collado, Anthony Sanchez and Florence Riera for their technical support.

VII Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

VI. References

- Beidleman, B.A., Rock, P.B., Muza, S.R., Fulco, C.S., Gibson, L.L., Kamimori, G.H., and Cymerman, A. 2002. Substrate oxidation is altered in women during exercise upon acute altitude exposure: *Med. Sci. Sports Exerc.* **34**(3): 430–437. doi:10.1097/00005768-200203000-00008.
- Bouissou, P., Guezennec, C., Defer, G., and Pesquies, P. 1987. Oxygen Consumption, Lactate Accumulation, and Sympathetic Response During Prolonged Exercise Under Hypoxia. *Int. J. Sports Med.* **08**(04): 266–269. doi:10.1055/s-2008-1025667.
- Braun, B., Mawson, J.T., Muza, S.R., Dominick, S.B., Brooks, G.A., Horning, M.A., Rock, P.B., Moore, L.G., Mazzeo, R.S., Ezeji-Okoye, S.C., and others. 2000. Women at altitude: carbohydrate utilization during exercise at 4,300 m. *J. Appl. Physiol.* **88**(1): 246–256.
- Brooks, G.A., Butterfield, G.E., Wolfe, R.R., Groves, B.M., Mazzeo, R.S., Sutton, J.R., Wolfel, E.E., and Reeves, J.T. 1991. Increased dependence on blood glucose after acclimatization to 4,300 m. *J. Appl. Physiol.* **70**(2): 919–927.
- Brooks, G.A., and Mercier, J. 1994. Balance of carbohydrate and lipid utilization during exercise: the “crossover” concept. *J. Appl. Physiol.* **76**(6): 2253–2261.
- Chorell, E., Moritz, T., Branth, S., Antti, H., and Svensson, M.B. 2009. Predictive Metabolomics Evaluation of Nutrition-Modulated Metabolic Stress Responses in Human Blood Serum During the Early Recovery Phase of Strenuous Physical Exercise. *J. Proteome Res.* **8**(6): 2966–2977. doi:10.1021/pr900081q.
- Dieterle, F., Ross, A., Schlotterbeck, G., and Senn, H. 2006. Probabilistic Quotient Normalization as Robust Method to Account for Dilution of Complex Biological Mixtures. Application in ¹H NMR Metabonomics. *Anal. Chem.* **78**(13): 4281–4290. doi:10.1021/ac051632c.
- Dumas, M.-E., Maibaum, E.C., Teague, C., Ueshima, H., Zhou, B., Lindon, J.C., Nicholson, J.K., Stamler, J., Elliott, P., Chan, Q., and Holmes, E. 2006. Assessment of Analytical Reproducibility of ¹H NMR Spectroscopy Based Metabonomics for Large-Scale Epidemiological Research: the INTERMAP Study. *Anal. Chem.* **78**(7): 2199–2208. doi:10.1021/ac0517085.
- Ferrannini, E. 1988. The theoretical bases of indirect calorimetry: a review. *Metabolism* **37**(3): 287–301.

- Gao, H., Dong, B., Liu, X., Xuan, H., Huang, Y., and Lin, D. 2008. Metabonomic profiling of renal cell carcinoma: high-resolution proton nuclear magnetic resonance spectroscopy of human serum with multivariate data analysis. *Anal. Chim. Acta* **624**(2): 269–277.
- Gaston, A.-F., Durand, F., Roca, E., Doucende, G., Hapkova, I., and Subirats, E. 2016. Exercise-Induced Hypoxaemia Developed at Sea-Level Influences Responses to Exercise at Moderate Altitude. *PLOS ONE* **11**(9): e0161819. doi:10.1371/journal.pone.0161819.
- Gore, C.J., Little, S.C., Hahn, A.G., Scroop, G.C., Norton, K.I., Bourdon, P.C., Woolford, S.M., Buckley, J.D., Stanef, T., Campbell, D.P., Watson, D.B., and Emonson, D.L. 1996. Reduced performance of male and female athletes at 580 m altitude. *Eur. J. Appl. Physiol.* **75**(2): 136–143. doi:10.1007/s004210050138.
- Hawley, J.A., Myburgh, K.H., Noakes, T.D., and Dennis, S.C. 1997. Training techniques to improve fatigue resistance and enhance endurance performance. *J. Sports Sci.* **15**(3): 325–333. doi:10.1080/026404197367335.
- Hinkle, P.C., Kumar, M.A., Resetar, A., and Harris, D.L. 1991. Mechanistic stoichiometry of mitochondrial oxidative phosphorylation. *Biochemistry (Mosc.)* **30**(14): 3576–3582.
- Horowitz, J.F., and Klein, S. 2000. Lipid metabolism during endurance exercise. *Am. J. Clin. Nutr.* **72**(2): 558s–563s.
- Jansson, E. 1982. On the significance of the respiratory exchange ratio after different diets during exercise in man. *Acta Physiol. Scand.* **114**(1): 103–110.
- Katayama, K., Goto, K., Ishida, K., and Ogita, F. 2010. Substrate utilization during exercise and recovery at moderate altitude. *Metabolism* **59**(7): 959–966.
- Keys, A., Hall, F.G., and Barron, E.S.G. 1936. THE POSITION OF THE OXYGEN DISSOCIATION CURVE OF HUMAN BLOOD AT HIGH ALTITUDE. *Am. J. Physiol. -- Leg. Content* **115**(2): 292–307.
- Kirwan, G.M., Coffey, V.G., Niere, J.O., Hawley, J.A., and Adams, M.J. 2009. Spectroscopic correlation analysis of NMR-based metabonomics in exercise science. *Anal. Chim. Acta* **652**(1–2): 173–179. doi:10.1016/j.aca.2009.07.011.
- Lenz, E.M., and Wilson, I.D. 2007. Analytical Strategies in Metabonomics. *J. Proteome Res.* **6**(2): 443–458. doi:10.1021/pr0605217.

- Levin, L., Gevers, W., Jardine, L., De Guel, F.J.M., and Duncan, E.J. 1983. Serum amino acids in weight-losing patients with cancer and tuberculosis. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* **19**(6): 711–715. doi:10.1016/0277-5379(83)90002-0.
- Lewis, G.D., Farrell, L., Wood, M.J., Martinovic, M., Arany, Z., Rowe, G.C., Souza, A., Cheng, S., McCabe, E.L., Yang, E., Shi, X., Deo, R., Roth, F.P., Asnani, A., Rhee, E.P., Systrom, D.M., Semigran, M.J., Vasan, R.S., Carr, S.A., Wang, T.J., Sabatine, M.S., Clish, C.B., and Gerszten, R.E. 2010. Metabolic Signatures of Exercise in Human Plasma. *Sci. Transl. Med.* **2**(33): 33ra37. doi:10.1126/scitranslmed.3001006.
- Lou, B.-S., Wu, P.-S., Liu, Y., and Wang, J.-S. 2014. Effects of Acute Systematic Hypoxia on Human Urinary Metabolites Using LC-MS-Based Metabolomics. *High Alt. Med. Biol.* **15**(2): 192–202. doi:10.1089/ham.2013.1130.
- Lundby, C. e, and Van Hall, G. 2002. Substrate utilization in sea level residents during exercise in acute hypoxia and after 4 weeks of acclimatization to 4100 m. *Acta Physiol. Scand.* **176**(3): 195–201.
- Mazzeo, R.S. 2008. Physiological Responses to Exercise at Altitude. *Sports Med.* **38**(1): 1–8. doi:10.2165/00007256-200838010-00001.
- Miccheli, A., Marini, F., Capuani, G., Micheli, A.T., Delfini, M., Di Cocco, M.E., Puccetti, C., Paci, M., Rizzo, M., and Spataro, A. 2009. The influence of a sports drink on the postexercise metabolism of elite athletes as investigated by NMR-based metabolomics. *J. Am. Coll. Nutr.* **28**(5): 553–564.
- Mollard, P., Woorons, X., Letournel, M., Lamberto, C., Favret, F., Pichon, A., Beaudry, M., and Richalet, J.-P. 2007. Determinants of maximal oxygen uptake in moderate acute hypoxia in endurance athletes. *Eur. J. Appl. Physiol.* **100**(6): 663–673. doi:10.1007/s00421-007-0457-0.
- Nahon, P., Amathieu, R., Triba, M.N., Bouchemal, N., Nault, J.-C., Ziol, M., Seror, O., Dhonneur, G., Trinchet, J.-C., Beaugrand, M., and Moyec, L.L. 2012. Identification of Serum Proton NMR Metabolomic Fingerprints Associated with Hepatocellular Carcinoma in Patients with Alcoholic Cirrhosis. *Clin. Cancer Res.* **18**(24): 6714–6722. doi:10.1158/1078-0432.CCR-12-1099.
- N. Triba, M., Moyec, L.L., Amathieu, R., Goossens, C., Bouchemal, N., Nahon, P., N. Rutledge, D., and Savarin, P. 2015. PLS/OPLS models in metabolomics: the impact of permutation of dataset rows on the K-fold cross-validation quality parameters. *Mol. Biosyst.* **11**(1): 13–19. doi:10.1039/C4MB00414K.

- Parry-Billings, M., Blomstrand, E., McAndrew, N., and Newsholme, E. 1990. A Communicational Link Between Skeletal Muscle, Brain, and Cells of the Immune System. *Int. J. Sports Med.* **11**(S 2): S122–S128. doi:10.1055/s-2007-1024863.
- Pohjanen, E., Thysell, E., Jonsson, P., Eklund, C., Silfver, A., Carlsson, I.-B., Lundgren, K., Moritz, T., Svensson, M.B., and Antti, H. 2007. A Multivariate Screening Strategy for Investigating Metabolic Effects of Strenuous Physical Exercise in Human Serum. *J. Proteome Res.* **6**(6): 2113–2120. doi:10.1021/pr070007g.
- Roberts, A.C., Butterfield, G.E., Cymerman, A., Reeves, J.T., Wolfel, E.E., and Brooks, G.A. 1996. Acclimatization to 4,300-m altitude decreases reliance on fat as a substrate. *J. Appl. Physiol.* **81**(4): 1762–1771.
- Westerhuis, J.A., van Velzen, E.J., Hoefsloot, H.C., and Smilde, A.K. 2010. Multivariate paired data analysis: multilevel PLSDA versus OPLSDA. *Metabolomics* **6**(1): 119–128.
- Wilson, N. 2008. *Metabolomics, Metabonomics and Metabolite Profiling*. Royal Society of Chemistry.
- Wishart, D.S. 2007. Current Progress in computational metabolomics. *Brief. Bioinform.* **8**(5): 279–293. doi:10.1093/bib/bbm030.
- Yan, B., A, J., Wang, G., Lu, H., Huang, X., Liu, Y., Zha, W., Hao, H., Zhang, Y., Liu, L., Gu, S., Huang, Q., Zheng, Y., and Sun, J. 2009. Metabolomic investigation into variation of endogenous metabolites in professional athletes subject to strength-endurance training. *J. Appl. Physiol.* **106**(2): 531–538. doi:10.1152/jappphysiol.90816.2008.

Table 1 Average performance data of the endurance exercise test between 20 min and 60 min

	Average between 20 and 60 min	
	Sea level	Altitude
VO ₂ endurance test (ml.min.kg ⁻¹)	36 ± 5	31* ± 6
VO ₂ max (%)	69 ± 7	67 ± 8
Power Output (Watts)	203 ± 34	183* ± 31
VE (L.min ⁻¹)	70 ± 12	71 ± 9
VE/VCO ₂	27 ± 4	31* ± 4
Pet CO ₂ (mmHg)	42 ± 3	36* ± 4
SpO ₂ (%)	98 ± 4	92* ± 2
HR (beat.min ⁻¹)	139 ± 14	130* ± 15
RER	0.92 ± 0.06	0.97* ± 0.05

* Significantly different from sea level (P < 0.05). n = 20 in each group;

VO₂ : Oxygen uptake; VE : Minute ventilation; Pet CO₂: End-tidal carbon dioxide pressure; SpO₂ : O₂ saturation of haemoglobin; HR : Heart rate; RER : Respiratory exchange ratio

Table 2 List of peaks with correlation coefficient over 0.5 from the OPLS loading plot. Metabolites assignments and label in the loading plot. r = correlation coefficient.

Chemical shift	Metabolites	Labels	T0 Vs T60	
			r plaine	r altitude
0.9	CH ₃ fatty acids	1	-0.5	-0.7
0.96	L-isoleucine	2	-	-0.8
0.99	L-leucine	3	-	-0.8
1.04	L-valine	4	-	-0.8
1.29	CH ₂ fatty acids	5	-0.5	-0.7
1.32	Lactate	6	-	0.6
1.48	Alanin	7	-	-0.6
1.57	CH ₂ fatty acids	8	-0.5	-0.7
2.01	Fatty acids	9	-0.5	-0.75
2.12	Glutamine	10	-	-0.7
2.24	Acetone	11	-0.55	-0.55
2.41	Succinate	12	0.8	0.8
2.45	Glutamine	13	-	-0.7
3.57	Glycerol	14	0.9	0.9
3.65	Glycerol	15	0.9	0.9
3.0-4.0	Glucose	16	-	-0.5
4.1	Lactate	17	-	0.6
5.32	Double bond fatty acid	18	-0.55	-0.6

Fig.1 Score plot of the ACPmodel obtained with plasma at SL before (T0) endurance exercise test (red) and ALT before (T0) endurance exercise test (blue).

Fig.2 a) Score plot of the ACPmodel obtained with plasma at SL before (T0) endurance exercise test (red) and after 60 min (T60) endurance exercise test (blue) **b)** Score plot of the OPLS model obtained with plasma at SL before (T0) endurance exercise test (red) and after 60 min (T60) endurance exercise test.(blue) **c)** OPLS loading plot at SL. Variations of metabolites are represented using a line plot between 0.5 and 5.5 ppm. Positive signals correspond to metabolites at increased concentrations in plasma after exercise (T60). Conversely, negative signals correspond to metabolites present at increased concentrations in plasma before exercise (T0). The colours correspond to the r correlation coefficient. The buckets are labelled according to metabolite assignments presented in Table 2.

Fig.3 a) Score plot of the ACPmodel obtained with plasma at ALT before (T0) endurance exercise test (red) and after 60 min (T60) endurance exercise test (blue) **b)** Score plot of the OPLS model obtained with plasma at altitude before (T0) endurance exercise test (red) and after 60 min (T60) endurance exercise test (blue) **c)** OPLS loading plot at altitude. Variations of metabolites are represented using a line plot between 0.5 and 5.5 ppm. Positive signals correspond to metabolites at increased concentrations in plasma after exercise (T60). Conversely, negative signals correspond to metabolites present at increased concentrations in plasma before exercise (T0). The colours correspond to the r correlation coefficient. The buckets are labelled according to metabolite assignments presented in Table 2.

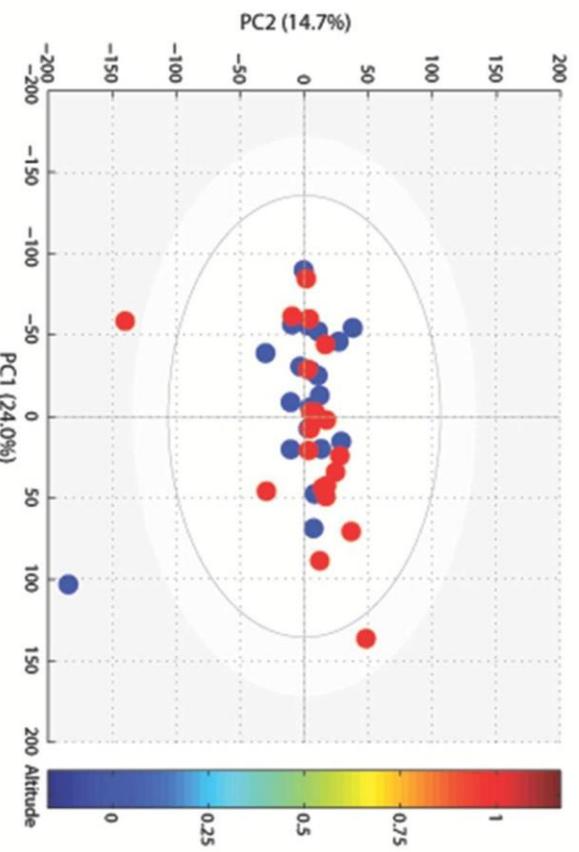


Fig. 1 Score plot of the ACPmodel obtained with plasma at SL before (T0) endurance exercise test (red) and

ALT before (T0) endurance exercise test (blue)

65x43mm (300

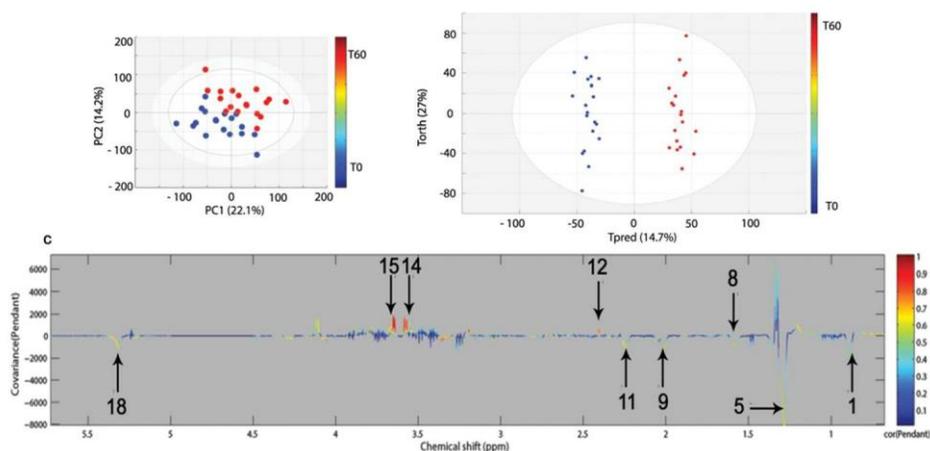


Fig.2 a) Score plot of the ACPmodel obtained with plasma at SL before (T0) endurance exercise test (red) and after 60 min (T60) endurance exercise test (blue) b) Score plot of the OPLS model obtained with plasma at SL before (T0) endurance exercise test (red) and after 60 min (T60) endurance exercise test.(blue) c) OPLS loading plot at SL. Variations of metabolites are represented using a line plot between 0.5 and 5.5 ppm. Positive signals correspond to metabolites at increased concentrations in plasma after exercise (T60). Conversely, negative signals correspond to metabolites present at increased concentrations in plasma before exercise (T0). The colours correspond to the r correlation coefficient. The buckets are labelled according to metabolite assignments presented in Table 2.

100x57mm (300 x 300 DPI)

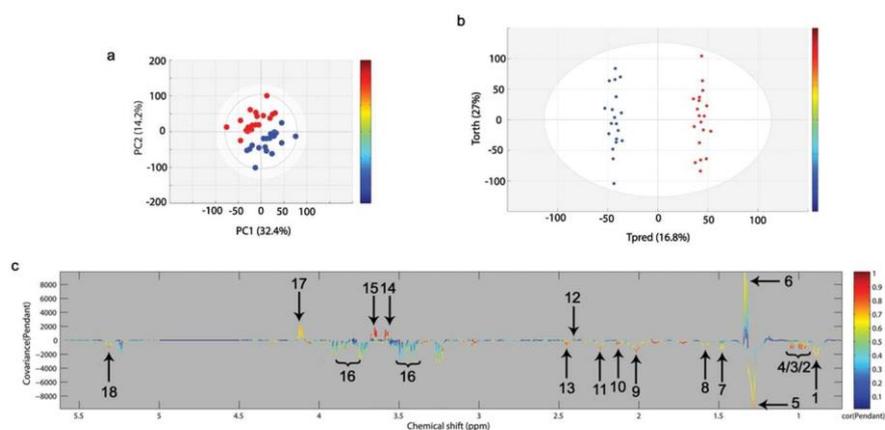


Fig.3 a) Score plot of the ACPmodel obtained with plasma at ALT before (T0) endurance exercise test (red) and after 60 min (T60) endurance exercise test (blue) b) Score plot of the OPLS model obtained with plasma at altitude before (T0) endurance exercise test (red) and after 60 min (T60) endurance exercise test (blue) c) OPLS loading plot at altitude. Variations of metabolites are represented using a line plot between 0.5 and 5.5 ppm. Positive signals correspond to metabolites at increased concentrations in plasma after exercise (T60). Conversely, negative signals correspond to metabolites present at increased concentrations in plasma before exercise (T0). The colours correspond to the r correlation coefficient. The buckets are labelled according to metabolite assignments presented in Table 2.

103x55mm (300 x 300 DPI)

Résumé :

A l'heure actuelle aucun consensus n'existe sur l'utilisation des substrats énergétiques lors d'un exercice en altitude. Certaines études ont montré une utilisation accrue des glucides en altitude comparée à la plaine mais les intensités d'exercices utilisées sont discutables et l'utilisation de méthodes biochimiques traditionnelles ont permis de doser qu'un nombre restreint de molécules. Aujourd'hui grâce à la métabolomique, il est possible d'analyser les variations d'un grand nombre de métabolites simultanément. Le but de cette thèse est d'étudier l'incidence de l'altitude modérée sur l'utilisation des substrats énergétiques à l'effort à l'aide de la métabolomique par résonance magnétique nucléaire du proton. Des échantillons de plasmas et d'urines ont été collectés lors d'exercices d'endurance en plaine et en altitude modérée chez des sujets non acclimatés. Nos premiers résultats, dans les plasmas, ont montré une baisse de la glycémie et une utilisation accrue des acides aminés ramifiés entre avant et après un exercice d'endurance en altitude, ce qui n'a pas été observé en plaine. Ces résultats ont ensuite été confirmés lors d'un exercice d'endurance jusqu'à épuisement. De plus, nous avons montré que l'utilisation des urines permet de mettre en avant les résultats obtenus dans les plasmas, ce qui est très encourageant pour la compréhension des adaptations métaboliques en altitude par des méthodes non invasives. Pour finir, nous avons utilisé une méthode statistique innovante appelée « analyse en composantes communes et poids spécifiques ». Les résultats ont permis d'observer les variabilités communes entre les paramètres physiologiques mesurés et les variations des métabolites plasmatiques.

Abstract

Although it is known that altitude impairs performance in endurance sports, there is no consensus on the involvement of energy substrates in this process. Some studies have shown an increased use of carbohydrates at altitude compared at plain but the intensities of exercises used are debatable and the use of traditional biochemical methods allowed to dose only a limited number of molecules. Today, thanks to metabolomics, it is possible to analyze the variations of a large number of metabolites simultaneously. The aim of this thesis is to investigate the incidence of moderate altitude on the use of energy substrates on stress using proton nuclear magnetic resonance metabolomics. Plasma and urine samples were collected during endurance exercises at plain and at moderate altitude in non-acclimatized subjects. Our first results in plasma showed decreased blood glucose and increased use of branched amino acids between before and after endurance exercise at altitude, which was not observed at plain. These results were then confirmed during an endurance exercise until exhaustion. Moreover, we have shown that the use of urine allows to highlight the results obtained in the plasmas, which is very encouraging for the understanding of the metabolic adaptations at altitude by noninvasive methods. Finally, we used an innovative statistical method called “common components and specific weights analysis”. The results allowed us to observe the common variability between the measured physiological parameters and the variations of the plasma metabolites.