

**MINISTERE DE L'ECOLOGIE ET DU DEVELOPPEMENT DURABLE.**

CONVENTION DE RECHERCHE N° 23-G/2004

(référence Accord N° CV04000161)

Mesure et prévention des effets de la canicule : améliorer la  
thermorégulation des sujets à risque.

RAPPORT FINAL

Mots-clés : vasodilatation cutanée active, pertes thermiques, aspirine, paracétamol, diabète,

Thème de l'APR concerné :

Thème IV « Changement climatique et Santé »

IV.1. a) La surmortalité provoquée par les vagues de chaleur

Responsable scientifique : SAUMET Jean Louis, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier, Chef de service du laboratoire d'explorations fonctionnelles vasculaires au CHU d'Angers, *responsable du laboratoire de Physiologie à l'UFR des Sciences Médicales, associé à l'UMR CNRS6214 – INSERM 771 6188.*

## **Table des matières**

1. Introduction.....	4
Rappels de physiologie : .....	5
-Le vaisseau sanguin .....	5
-Endothélium et tonus vasculaire .....	5
-Facteurs endothéliaux de la relaxation.....	5
Principe de la technique de laser Doppler et de l'iontophorèse .....	7
La débitmétrie laser Doppler.....	7
La technique de l'iontophorèse .....	8
Autres méthode d'étude de la vasodilatation endothélium dépendante.....	10
2. Développements du projet.....	11
Volet 1 : Mise au point d'une chambre de iontophorèse : .....	11
Volet 2 : Reproductibilité des mesures lors du chauffage local. ....	11
Volet 3 : Etude des effets médicamenteux lors du chauffage local .....	11
Volet 4 : Influence du diabète sur les capacités maximales de vasodilatation au chauffage local .....	12
Volet 5 : Etude des effets médicamenteux sur un modèle de vasodilatation courant induite. ...	12
Volet 6 : Etude des effets médicamenteux lors du chauffage global .....	12
3. Volet 1 : Mise au point d'une chambre de iontophorèse.....	13
But de ce volet.....	13
Validation de la chambre.....	14
Résultats .....	15
Discussion .....	17
4. Volet 2 : Reproductibilité des mesures lors du chauffage local .....	19
But de ce volet.....	19
Méthode.....	19
Résultats : .....	19
Discussion .....	21
5. Volet 3 : Etude des effets médicamenteux lors du chauffage local .....	22
But de ce volet.....	22
Méthode.....	22
Résultats .....	22
Discussion .....	23
6. Volet 4 : Influence du diabète sur les capacités maximales de vasodilatation au chauffage local. ....	23
But de ce volet : .....	23
Méthode : .....	24
Résultats: .....	24
Discussion : .....	25
7. Volet 5 : Etude des effets médicamenteux sur la vasodilatation courant induite.....	23
But de ce volet : .....	25
Dispositif expérimental .....	26
Résultats : .....	27
Discussion .....	28
8. Volet 6 : Etude des effets du chauffage global. ....	32

But de ce volet.....	30
Dispositif expérimental .....	30
Dispositif expérimental .....	32
Analyse des résultats .....	32
Résultats .....	32
Discussion .....	34
9. Conclusion Générales :.....	35
10. Références :.....	36
11. Annexes : Liste des abréviations.....	37
12. Annexes : Liste des Figures .....	38
13. Annexes : Liste des Tableaux.....	39

## 1. Introduction.

Les effets de la canicule ont permis d'identifier des populations à risque : personnes âgées ou ayant une maladie cardiovasculaire, un diabète, une affection neuro-psychiatrique avec prise de neuroleptique... Pour établir une stratégie préventive adaptée aux personnes à risque qui doivent bénéficier des premiers secours, il est nécessaire de mieux connaître les moyens de lutte de l'organisme contre une chaleur environnementale excessive, leurs altérations chez les personnes à risque et les moyens de palier à ce déficit.

En ambiance chaude, une des stratégies de l'organisme pour maintenir sa température centrale à un niveau proche de 37°C est l'augmentation du débit sanguin cutané. Cette augmentation va permettre la circulation du sang chaud vers la périphérie où il va pouvoir être rafraîchi par conduction, convection, radiation et évaporation. En retournant vers le cœur, le sang ainsi rafraîchi va permettre d'abaisser la température corporelle. Par l'augmentation du diamètre de ces vaisseaux sanguins, le réseau microcirculatoire cutané va jouer un rôle central dans les mécanismes d'adaptation de l'organisme humain en ambiance chaude.

La première hypothèse de ce projet était que les mécanismes de contrôle de la microcirculation cutanée peuvent être altérés chez les sujets les plus à risque lors de la canicule. La vasodilatation cutanée serait moins importante ou retardée, d'où un retard dans la dissipation de la chaleur corporelle. L'étude des effets de la chaleur sur l'organisme humain suppose l'utilisation d'une méthodologie adaptée dont la mise au point sur des sujets sains a fait l'objet de la première partie de nos travaux.

La seconde hypothèse de ce projet était que la prise de certains traitements peut influencer l'adaptation de l'organisme humain à des variations climatiques importantes, adaptation qui dépend de l'intégrité des fonctions de thermorégulation. En effet les personnes présentant des risques importants en ambiance chaude font fréquemment l'objet de traitements médicamenteux et notamment avec des antipyrétiques. Utilisés pour leurs propriétés hypothermiantes, les antipyrétiques ont largement prouvé leur efficacité lors d'hyperthermies d'origine infectieuse. En revanche, leur efficacité lors d'hyperthermies d'origine environnementale telles que celles observées lors de canicule, reste mal connue. Un des moyens de lutte de l'organisme humain contre l'élévation de la température corporelle interne étant l'augmentation du débit sanguin

cutané, nous avons voulu voir si la prise d'antipyrétiques tel que l'indométacine pouvait influencer l'augmentation du débit sanguin cutané comme dans le cadre d'hyperthermies locales ou globales.

### *Rappels de physiologie :*

#### -LE VAISSEAU SANGUIN

Un vaisseau sanguin de vertébré est une structure tubulaire complexe qui en fait un organe à part entière. Il est constitué de trois couches :

- L'intima : C'est la couche la plus interne. Elle est formée d'une couche de cellules épithéliales : l'endothélium. C'est le seul élément cellulaire de l'organisme à être en contact avec le sang.
- La média : une couche musculaire.
- L'adventice : enveloppe conjonctive qui contient les éléments nerveux du vaisseau.

#### -ENDOTHELIUM ET TONUS VASCULAIRE

La fonction de l'endothélium, structure située à l'interface du sang et des tissus interstitiels, a longtemps été considérée comme se limitant à celle d'une barrière semi-perméable inerte et uniforme, mais l'évolution des connaissances a donné à l'endothélium un statut de tissu fonctionnel. En effet, l'endothélium forme une surface d'échange considérable qui module l'homéostasie des vaisseaux, en intervenant principalement sur le tonus vasculaire par la sécrétion de substances vasorelaxantes et vasoconstrictrices.

#### -FACTEURS ENDOTHELIAUX DE LA RELAXATION

Les facteurs endothéliaux de relaxation (EDRF) comprennent le monoxyde d'azote (NO), la prostacycline et un facteur hyperpolarisant endothélial (EDHF), encore imprécis.

Le *monoxyde d'azote* est le principal facteur endothélial de relaxation. Il est formé à partir de la terminaison guanidine nitrergique de la L-arginine par une enzyme, la NO synthase (NOS), qui

est constitutive dans les cellules endothéliales et sensible au calcium et aux phosphorylations (Palmer RM 1988). Compte tenu de la simplicité de sa structure, la synthèse du NO est très rapide et le temps de réponse est donc bref (de l'ordre de 30 s). Les activités de la NOS endothéliale peuvent être inhibées de façon compétitive par des analogues de la L-arginine tels que le NG-monométhyl-L-arginine (L-NMMA) ou le NG-nitro-L-arginine ester méthylique (L-NAME). Le NO diffuse vers les cellules musculaires lisses vasculaires et provoque leur relâchement en stimulant une enzyme cytosolique, la guanylate cyclase soluble, ce qui conduit à un accroissement de la guanosine monophosphate cyclique (GMPc). Cette dernière augmentation est associée à l'inhibition de l'appareil contractile. Ainsi la production de NO contribue pour une grande part aux relaxations dépendantes de l'endothélium.

Deux grands types de signaux sont capables d'activer la NOS endothéliale : la contrainte hémodynamique de cisaillement du sang sur l'endothélium et des agents pharmacologiques couplés à la voie des inositol phosphates ou à des tyrosines kinases dans la cellule endothéliale. Les systèmes peptidergiques possédant des récepteurs à 7 domaines transmembranaires couplés à la phospholipase C dans la cellule endothéliale sont capables d'induire une production de NO. C'est le cas de l'acétylcholine et des récepteurs muscariniques. Dans leur expérience pharmacologique fondatrice, Furchgott et Zawadzski (1980) ont démontré l'"endothélium-dépendance" de la vasodilatation : en présence d'endothélium l'acétylcholine était vasodilatatrice d'une artère précontractée ; en l'absence d'endothélium elle devenait vasoconstrictrice.

La *prostacycline* (PGI<sub>2</sub>), produit de la cyclo-oxygénase à partir de l'acide arachidonique, induit également une vasodilatation. Elle est formée principalement dans les cellules endothéliales, en réaction aux contraintes de cisaillement et à l'hypoxie. La prostacycline provoque la relaxation des cellules musculaires lisses vasculaires en activant l'adénylate-cyclase et en augmentant la production d'adénosine monophosphate cyclique (AMPc). Le délai d'intervention serait de l'ordre de la minute. Dans la plupart des vaisseaux sanguins, la prostacycline ne joue qu'un rôle mineur dans la relaxation endothélium-dépendante, son effet venant surtout s'ajouter à celui du NO (Moncada S 1979).

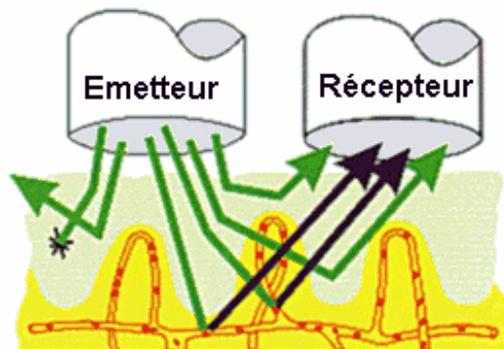
Des études électrophysiologiques sur diverses artères isolées, démontrent que l'acétylcholine provoque des hyperpolarisations dues à un *facteur hyperpolarisant endothélial* diffusible autre que le NO et la prostacycline (McGuire JJ et al. 2001). La contribution de l'hyperpolarisation aux relaxations endothélium-dépendantes varie selon la taille de l'artère ( Nagao T 1992). Toutefois,

si les deux médiateurs peuvent contribuer aux relaxations dépendantes de l'endothélium, le rôle du NO est néanmoins prépondérant dans des circonstances normales.

### *Principe de la technique de laser Doppler et de l'iontophorèse*

#### LA DEBITMETRIE LASER DOPPLER

La sonde est composée d'un laser hélium-néon de 0.8 mW (longueur d'onde de 780 nm). Le laser (Light Activation by Stimulated Emission of Radiation) est un faisceau lumineux cohérent monochromatique (Boccalon, 1996). Le faisceau émis par la sonde va traverser les différentes sous-couches cutanées jusqu'au niveau des vaisseaux de la microcirculation cutanée. Les photons émis et réfléchis par une cellule sanguine en mouvement (principalement les hématies) engendrent un effet Doppler : la fréquence d'onde réfléchi est différente de la fréquence d'onde émise et ceci en proportion de la vitesse de la cellule. Par contre, les photons émis et réfléchis par les éléments statiques du tissu ne subissent pas d'effet Doppler. La lumière laser réfléchi par les cellules tissulaires fixes (faisceau de référence) et par les hématies mobiles (faisceau laser réfléchi) est recueillie au niveau de la sonde et transmise par une fibre optique séparée pour être analysée (Figure 2).



**Figure 1 : Principe du laser Doppler**

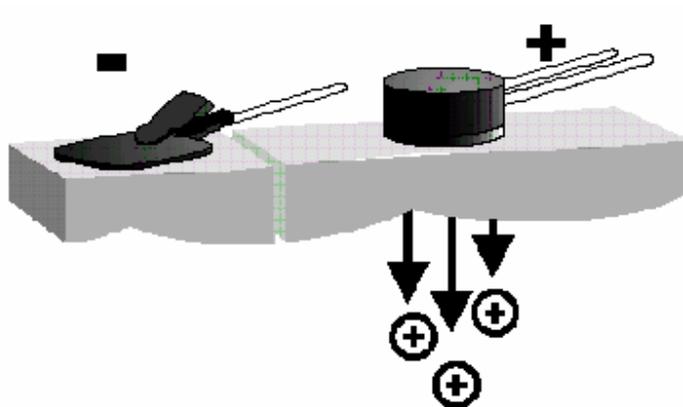
Les variations observées du flux vont être rapportées à des épisodes de vasodilatation ou de vasoconstriction car ces modifications vont dépendre des capacités vasomotrices des vaisseaux

explorés. Une vasodilatation va être rapportée à une augmentation du flux, une vasoconstriction à une diminution. Le laser Doppler va permettre l'enregistrement en continu de la perfusion du site choisi et donc permettre un suivi dans le temps du débit microcirculatoire qui est en réalité un flux d'hématies en mouvement à travers un volume de tissu par unité de temps puisque le diamètre du vaisseau sanguin n'est pas connu.

#### LA TECHNIQUE DE L'IONTOPHORESE

La pénétration de molécules à travers la peau est généralement lente à cause de l'excellente imperméabilité cutanée. Les composés non-ionisés sont généralement mieux absorbés à travers la peau que les substances ionisées, or de nombreuses substances actives qu'il serait intéressant d'appliquer à un niveau local existent sous forme ionique. Le courant électrique représente une source d'énergie extérieure permettant d'augmenter le taux de pénétration de ces molécules à travers la barrière épidermique. L'iontophorèse est une méthode non-invasive utilisant des courants de faible intensité (inférieure au mA) pour faire diffuser des molécules pharmacologiques à un niveau local en évitant toute action systémique de ces molécules. La quantité d'agent pharmacologique délivrée par iontophorèse à travers la peau est proportionnelle à la charge du courant appliqué. La charge du courant représente le produit de l'intensité du courant avec sa durée d'application. Les courants utilisés peuvent être appliqués pour des durées allant de quelques secondes à quelques minutes. Il s'agit d'une technique non douloureuse (seuls des picotements au niveau cutané sont parfois ressentis), ce qui facilite son utilisation en clinique.

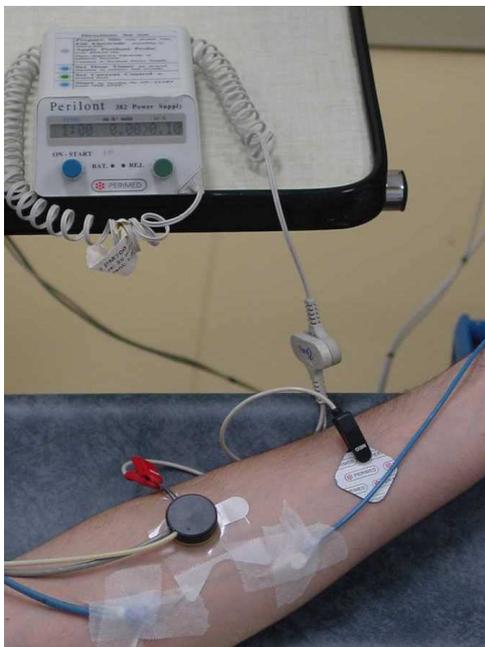
Associée à un laser Doppler, l'iontophorèse permet d'étudier l'effet de divers agents pharmacologiques sur la microcirculation cutanée (Labhasetwar V et al. 1995) (Figure 3). La technique de l'iontophorèse utilise le principe d'électrorépulsion des charges afin de favoriser la diffusion locale de molécules par voie transdermique. Selon la charge de la molécule à faire diffuser à travers la peau, l'anode ou la cathode est utilisée. Cette technique est régulièrement utilisée pour la vasomotricité microcirculatoire endothélium et non endothélium dépendante (Caballero AE 1999 & Hamdy O 2001). Pour cela il est réalisé des iontophorèses à l'anode d'Acétylcholine (vasodilatateur endothélium dépendant) et des iontophorèses à la cathode de Nitroprussiate de sodium (vasodilatateur endothélium indépendant).



**Figure 2: Couplage iontophorèse-laser Doppler au niveau anodal**

Le composé ionique chargé positivement est diffusé à travers la peau au niveau de l'anode (+) selon le principe de l'électrorépulsion des charges. Pour fermer le circuit électrique, la cathode (-) est fixée sur un patch de référence placé à distance.

La sonde laser Doppler est placée sur l'anode.



**Figure 3: Dispositif de iontophorèse au niveau de l'avant bras**

L'iontophorèse apparaît comme une technique innovante intéressante car non invasive lorsque les courants utilisés restent faibles. La technique est indolore et permet une diffusion proportionnelle au courant appliqué. C'est cette technique que nous utilisons pour tester la fonction endothéliale au laboratoire. Cependant, si cette technique est non invasive, le coût élevé des patchs de iontophorèse reste un facteur limitant de l'utilisation en routine de ces mesures de plus l'utilisation de tampons imbibés d'acétylcholine ne permet pas de faire deux iontophorèses consécutives sur le même site de mesure.

#### AUTRES METHODE D'ETUDE DE LA VASODILATATION ENDOTHELIUM DEPENDANTE

##### - vasodilatation induite par le flux

La vasodilatation induite par le flux est une vasodilatation endothélium dépendante qui reflète la relaxation d'une artère de conduction exposée à une force de cisaillement important. L'augmentation de débit ainsi que la force de cisaillement sont obtenues par une hyperémie post-ischémique réalisée au niveau de l'artère brachiale. L'enregistrement de la vasodilatation peut se faire soit par pléthysmographie à jauge de mercure (Higashi Y 2003), soit par photopléthysmographie et permet d'obtenir un flux artériel alors mesuré en ml pour 100 ml de tissu (Celermajer 1992). La technique échographique peut être aussi utilisée dans ce but. Selon les auteurs, l'occlusion artérielle réalisée afin d'obtenir une vasodilatation induite par le flux est en moyenne de 4 à 5 économides.mn<sup>-1</sup> .

##### - Vasodilatation à l'acétylcholine :

L'intégrité de la fonction endothéliale peut aussi être étudiée par d'infusion intra artérielle à des doses comprises entre 20 et 40µg/ml, ou par diffusion de l'acétylcholine en microdialyse. Cette technique consiste à obtenir une concentration de drogue élevée localement par transfert au travers d'une membrane semi perméable. Cependant l'injection intra artérielle et la microdialyse sont des techniques invasives.

## **2. Développements du projet**

### *Volet 1 : Mise au point d'une chambre de iontophorèse :*

Le but de ce volet de l'étude a été la construction d'un nouveau module permettant des iontophorèses avec enregistrement laser doppler continu au niveau de la peau.

La contrainte était de permettre à la fois d'obtenir une iontophorèse au travers d'une chambre dépourvue de tampons afin d'en permettre la vidange complète après ou avant iontophorèse et de permettre ainsi de réaliser plusieurs iontophorèses consécutives sur un même site de mesure afin de pouvoir tester l'effet d'inhibiteurs locaux sur la réponse circulatoire cutanée. L'autre intérêt de la chambre est de pouvoir réaliser un chauffage local afin d'obtenir la vasodilatation maximale. En effet la réponse cutanée à un chauffage local est supposée plus importante que la réponse observable lors d'un chauffage systémique permettant ainsi que quantifier l'importance de la réponse au chauffage systémique par rapport à la réponse au chauffage local et définir une « réserve de vasodilatation ».

Cette analyse apparaît essentielle car rien ne prouve qu'une réponse identique chez plusieurs individus en valeur absolue correspond à une même mise en œuvre des capacités de réserve de vasodilatation au niveau cutané.

### *Volet 2 : Reproductibilité des mesures lors du chauffage local.*

L'étude de l'effet des traitements médicamenteux ou du diabète sur la réponse au chauffage local nécessite au préalable que soit analysée la reproductibilité des mesures lors du chauffage entre différents sites de mesures simultanés et entre deux expériences consécutives.

### *Volet 3 : Etude des effets médicamenteux lors du chauffage local*

La réponse vasodilatatrice à un chauffage local est souvent considérée comme permettant d'estimer les capacités maximales de vasodilatation d'un individu. Elle est souvent considérée comme relevant d'un effet direct de la chaleur sur le muscle lisse vasculaire et à ce titre indépendante de la fonction endothéliale et des médiateurs locaux. Le but de ce volet de l'étude était de confirmer cette hypothèse avant l'étude des patients diabétiques

*Volet 4 : Influence du diabète sur les capacités maximales de vasodilatation au chauffage local*

Des études récentes suggèrent une altération de cette réponse chez des patients diabétiques. Le but de ce volet du travail a consisté à rechercher s'il existe une différence de réponse entre les sujets sains et les sujets diabétiques. Une telle différence pourrait relever d'une altération directe de la fonction du muscle lisse vasculaire et participer à l'augmentation du risque hyperthermique chez les patients diabétiques.

*Volet 5 : Etude des effets médicamenteux sur un modèle de vasodilatation courant induite.*

La réponse de vasodilatation à l'application d'un courant galvanique fait intervenir un réflexe initié par des fibres nerveuses de petit diamètre. Ces fibres, dépourvues de myéline sont les fibres préférentiellement atteintes dans le cadre des neuropathies de type diabétique. Il apparaît important de pouvoir évaluer les interactions des traitements antipyrétiques avec la fonction de ces fibres qui participent aux phénomènes de vasodilatation cutanée en particulier dans le cadre de l'inflammation et de la douleur et lors des réponses à des stimuli thermiques intenses.

*Volet 6 : Etude des effets médicamenteux lors du chauffage global*

La réponse à un chauffage global s'accompagne d'une augmentation du débit cardiaque global mais aussi d'une redistribution des débits circulatoires. Les mécanismes mis en jeu sont plus complexes que lors d'un chauffage local et font intervenir à la fois des contrôles nerveux locaux et humoraux. Ainsi l'absence apparente d'effet des médicaments antipyrétiques lors du chauffage local ne permet pas de conclure à leur absence d'effet lors d'un chauffage systémique. La réalisation d'une épreuve de chauffage globale reste cependant plus lourde et nécessite des mesures de sécurité plus importante que lors du chauffage local.

### 3. Volet 1 : Mise au point d'une chambre de iontophorèse

#### *But de ce volet*

L'idée de ce volet est de concevoir et valider une chambre de iontophorèse réutilisable. Nous avons utilisé un support de plexiglas pour réaliser la chambre (voir schéma 1). Nous avons taillé celui-ci en deux plaques carrées de 3 cm d'arêtes. Entre ses deux plaques nous avons fixé une électrode puis siliconées l'ensemble. Au préalable, dans l'une des plaques (plaque 1 sur le schéma) nous avons réalisé un trou de 1 cm de diamètre destiné à recevoir la substance pharmacologique (ici l'Ach) où l'eau de chauffage. Nous avons percés des trous de 2 mm de diamètre sur les deux plaques dans lequel nous avons fixé à la colle deux capillaires permettant le flux de l'eau de chauffage. Enfin, dans la plaque 2 nous avons réalisé un trou de 1 mm de diamètre dans lequel nous avons fixé le support de la sonde laser.

Nous avons réalisé un premier modèle de chambre qui a révélé des problèmes de fuites lors du chauffage. Le positionnement de la pompe à hauteur du sujet et le sens d'écoulement de l'eau chaude ont permis de résoudre en partie ces fuites. Un fonctionnement optimal a été obtenu suite à la réalisation d'un deuxième modèle (Schéma 1) dans lequel nous avons déplacé les arrivés d'eau et siliconé les supports de plexiglas.

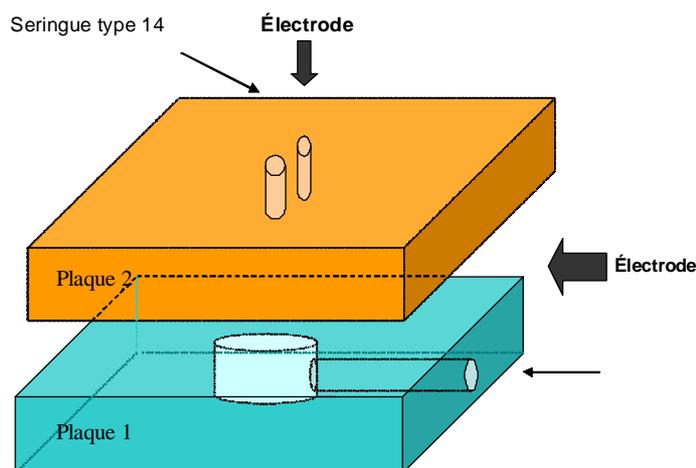


Figure 4: La conception de la chambre d'iontophorèse

## *Validation de la chambre*

La réponse vasodilatatrice cutanée à l'iontophorèse a été effectuée sur l'avant bras, en utilisant d'une part le modèle classique (patch watté), et d'autre part, notre modèle de chambre en plexiglas, positionné à 5 cm de distance l'un de l'autre.

La sonde (PF 481-1; Perimed) utilisée pour le modèle classique permet, au même site, de délivrer un courant, d'effectuer un chauffage locale grâce à une résistance et enfin d'enregistrer le flux sanguin cutané. Cette sonde comporte une chambre de  $1\text{cm}^2$  permettant de positionner une éponge et l'électrode iontophorétique (le patch), le flux laser doppler cutané est mesuré grâce à une sonde laser multifiliée (780nm, 1mW d'émission maximale, fréquence du doppler 20-20000 Hz) au centre de l'éponge.

Les sondes sont connectées au dispositif laser doppler (Periflux PF4001; Perimed).

Ces mêmes sondes sont connectées à un système de régulation de température (Peritemp PF4005; Perimed) et à un générateur de courant (Periiont, Micropharmacology System, PF 382; Perimed), permettant de délivrer un courant d'intensité et de durée programmable.

La température locale cutanée est mesurée grâce à un thermocouple positionné à 5cm des sondes laser. Ce thermocouple est connecté à un thermomètre électronique (BAT-12; Physitemp Instruments, Clifton, NJ). La pression artérielle systémique a été enregistrée grâce à un système non-invasif le Finapres 2350 (Ohmeda) positionné sur l'index ou le majeur du bras contre latérale de celui où sont positionné les sondes laser.

Nous avons testé la vasodilatation endothélium dépendante grâce à une iontophorèse de 2% d'acétylcholine chloride. Les mesures sont effectuées simultanément en utilisant la même intensité et le même temps de stimulation. Nous avons humidifié le patch (système classique) et rempli la cavité de la chambre avec 0.2 ml de solution. L'application du courant consiste en une stimulation de 20s, et 100  $\mu\text{A}$  de courant anodale. Dans les deux dispositifs nous avons utilisé des électrodes Ag/AgCl pour chacun des pôles.

L'expérimentation commence par un temps de repos de 2 min avant l'application du courant. 20min après la fin de l'application du courant le site de mesure est chauffé à  $44^\circ\text{C}$  permettant l'obtention d'une vasodilatation maximale.

L'idée d'utilisation d'une lampe infrarouge afin d'obtenir un chauffage local a été abandonnée en raison des risques de brûlures potentielles et le choix s'est porté vers la circulation d'eau à  $44^\circ$  à

l'intérieur de la chambre de iontophorèse.

Les données sont enregistrées grâce à un ordinateur par intermédiaire d'un convertisseur de signal analogue en digital (Biopac Systems, Santa Barbara, CA) avec une fréquence de 20Hz en 16bits. Pour tenir compte de possible changements de condition hémodynamique systémique, nous exprimerons les résultats obtenus en conductance vasculaire cutanée (CVC), calculée en divisant le flux sanguin cutané exprimé en unité arbitraire par la pression artérielle moyenne. La CVC maximale correspond au flux cutané enregistré pendant les deux dernières minutes de la période de chauffage.

Chez chaque sujet, nous avons normalisé la CVC en utilisant la CVC maximale fixée à 100% afin de mieux refléter le changement de flux sanguin cutané ainsi la iontophorèse d'acétylcholine est exprimée en pourcentage de CVC maximale.

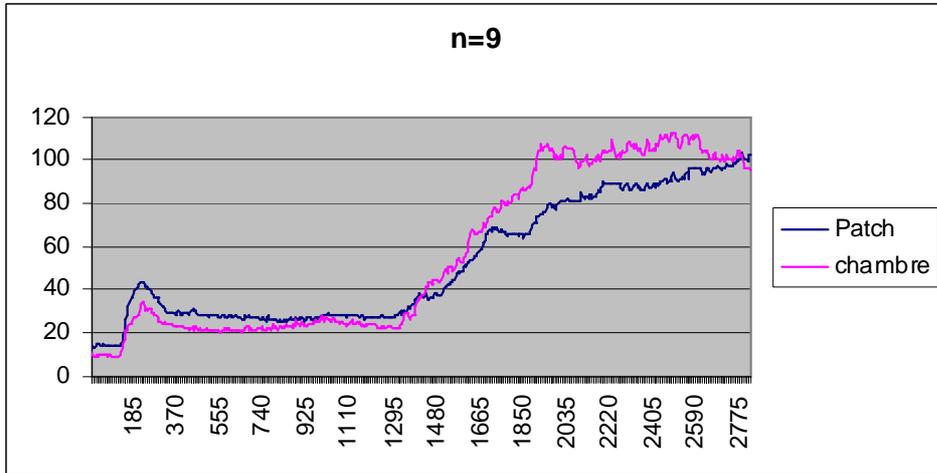
## Statistiques

Nous avons utilisé la moyenne des 15 premières secondes de la période de repos, la valeur maximale au pic, la moyenne sur 15 secondes à  $t=570s$ , la moyenne sur 15 secondes à  $t=1245s$ , pour effectuer nos tests statistiques.

Un test « t » pour série appariée a été réalisé pour déterminer une différence significative entre la valeur moyenne de repos et de pic. Nous avons utilisé un test « t » pour série non-appariée pour comparer les valeurs de pic entre groupes. Pour chaque analyse statistique une valeur de  $P < 0.05$  est considérée comme statistiquement significative.

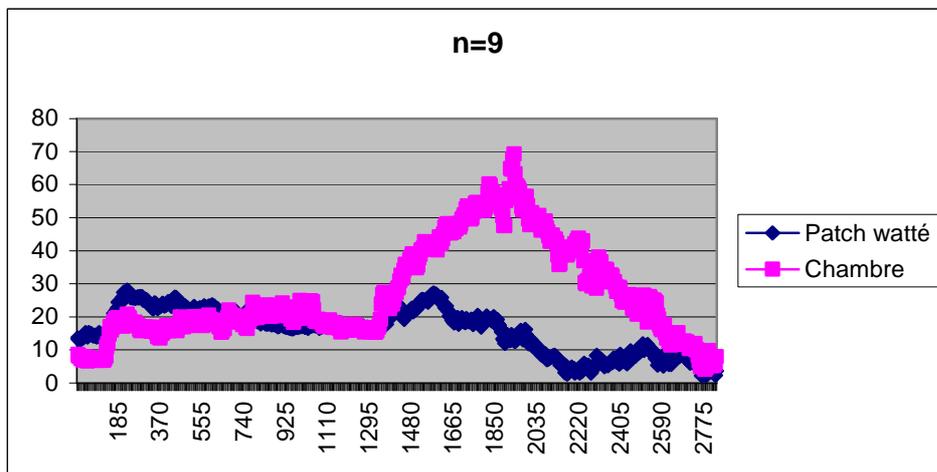
## Résultats

Les résultats obtenus sur un effectif de 9 sujets volontaires sains ne révèlent pas de différences significatives entre la iontophorèse utilisant le patch watté ou la chambre expérimentale (Fig. 4.a.). Toutefois, les courbes représentant les écarts types montre une variabilité de mesure beaucoup plus importante lors d'une iontophorèse utilisant la chambre.



**Figure 5: Réponse moyenne à l'acétylcholine et au chauffage sur la chambre de iontophorèse et le patch**

La variation est exprimée en pourcentage de CVC maximal en fonction du temps en secondes pour n=9



**Figure 6: Ecart type de la réponse à l'acétylcholine et au chauffage sur la chambre de iontophorèse et le patch**

La comparaison des variances entre les deux techniques patch watté versus chambre expérimentale révèle une homogénéité de mesure.

**Tableau 1 Moyenne et s.e.m pour les deux types de sondes (patch et chambre) pour n=9, utilisation d'un unpaired t test pour comparer les moyennes et d'un F test pour la variance.**

<b>n =9</b>	<b>repos</b>	<b>pic</b>	<b>570s</b>	<b>1245s</b>
<b>Moyenne groupe patch</b>	13.70±4.42	49.00±9.01	27.13±7.59	27.39±5.71
<b>Moyenne groupe chambre</b>	9.91±2.77	44.19±7.38	21.61±6.36	22.44±5.42
<b>Unpaired t test</b>	0.4796	0.6855	0.5853	0.5387
<b>Welch's correction</b>	ns	ns	ns	ns
<b>F test variance</b>	0.1031 ns	0.2919 ns	0.3151 ns	0.4437 ns

### *Discussion*

Dans cette étude, nous n'avons pas observé de différences de résultats en ce qui concerne la moyenne et les profils de la réponse entre le patch et la chambre de iontophorèse. Les problèmes techniques liés à la fuite au niveau de la chambre ayant été assez nombreux, nous n'avons pas été en mesure de multiplier les expérimentations intégrant des valeurs de chauffage.

Les mesures moyennes obtenues dans cette étude apparaissent cohérentes avec les mesures de la littérature (Kellogg DL. 1995, Koitka A. 2004). L'expression des résultats a été faite ici en conductance qui semble une façon de limiter la variabilité des mesures (Hagermark O. 1978, Morris SJ. 1996).

Cependant, alors même que les moyennes sont comparables dans les deux groupes, la différence essentielle tient à une augmentation de l'écart type lors du pic de iontophorèse entre le patch et la chambre alors qu'il s'agit pourtant de mesures synchrones entre le patch et la chambre

de iontophorèse. En effet, alors que l'écart type des mesures au pic pour le patch est de l'ordre de 20 unités laser, l'écart type atteint 90 unités laser avec la chambre de iontophorèse.

De telles différences d'écart types implique une augmentation considérable des effectifs dans le groupe utilisant la chambre de iontophorèse expérimentale, si on s'intéresse à la phase précoce de la période de chauffage mais résulte peut être de différences dans la cinétique de chauffage entre les deux systèmes.

Il semble donc bien que l'on obtienne des résultats très proches entre la chambre de iontophorèse et le patch ouaté. Des études ultérieures seront nécessaires pour confirmer ces résultats avant que la chambre de iontophorèse puisse être utilisée en routine dans nos études cliniques.

À terme les avantages du modèle de chambre (de nouvelles fonctionnalités notamment la possibilité d'effectuer des iontophorèses successives de produits différents au même site de mesure, tout en réduisant le coup de l'étude), devrait permettre la réalisation d'études impossibles jusqu'alors.

## 4. Volet 2 : Reproductibilité des mesures lors du chauffage local

### *But de ce volet*

Contrairement au stress thermique généré grâce au vêtement perfusé, le chauffage cutané local ne s'accompagne pas d'une augmentation de la température corporelle interne du sujet. Ainsi, les mécanismes impliqués dans l'augmentation du débit sanguin cutané en réponse à un chauffage local sont différents de ceux observés en ambiance chaude mais la technique est applicable à une grande variété de sujet sans inconvénient ni risque particulier. Le but de ce volet est d'analyser d'une part la reproductibilité des résultats observés lors d'un chauffage local et les effets de l'inhibition des prostaglandines sur la réponse cutanée au chauffage local.

### *Méthode*

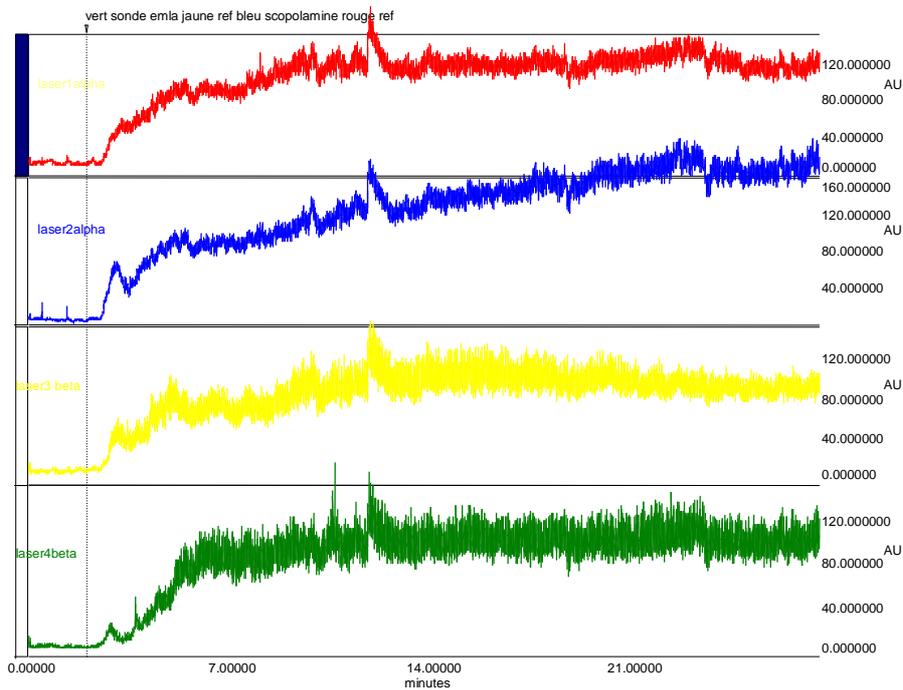
Une première étude a été menée chez 16 sujets jeunes, sains et bien portants. Le matériel et la méthode d'enregistrement ont été détaillés au chapitre précédent volet 1 et ne seront pas repris ici.

La technique d'étude de la réponse locale au chauffage a consisté en la réalisation d'un chauffage local de 25 minutes à 44°C. Le but de ce travail était de comparer la variabilité intra et inter-individuelle des réponses observées. Pour cela le chauffage a été appliqué sur deux sondes simultanément sur l'avant bras puis le protocole a été répété dans les mêmes conditions dans les huit jours suivant la première expérience. Les mesures sont faites à 3 minutes de chauffage (pic précoce de la réponse) et en fin de chauffage.

### *Résultats :*

Un exemple typique d'enregistrement simultané du signal laser doppler (ici sur 4 sondes chauffées en même temps) est présenté sur la figure ci-dessous.

**Figure 7 : Enregistrement Laser doppler au cours de chauffage (la voie 1 et 3 sont réalisées après traitement local par EMLA et scopolamine)**

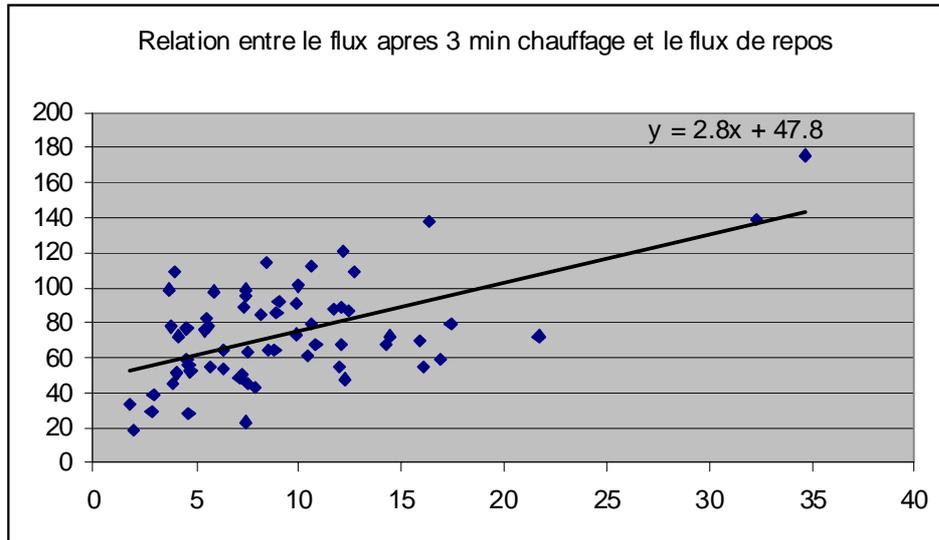


En moyenne on n'observe pas de différence significative des valeurs de débit cutané moyennes entre les deux sondes (Proximale et distal) au sein d'une même expérience ni entre deux expériences consécutives comme cela est présenté sur le tableau et le graphe ci dessous.

**Tableau 2: Débit cutané (moyenne +/-écart type) entre les deux sondes (proximal distal) et entre deux expériences (1 & 2) et au repos et après 3 et 25 minutes de chauffage local à 44°C.**

	REPOS	3min 44°C	25 min 44°C
Proximale 1	8.9+/-2.9	80.4+/-27.7	94.2+/-33.6
Distale 1	9.6+/-5.0	69.3+/-17.3	74.4+/-20.5
Proximale 2	8.0+/-4.6	67.5+/-27.5	73.5+/-30.4
Distale 2	10.9+/-9.9	76.8+/-39.7	90.1+/-51.0

Cependant le pooling de l'ensemble des résultats révèle une relation significative entre la valeur du débit cutané de repos et la valeur à 3 minutes ( $r$  de Spearman = 0,58 ;  $p < 0.05$ ) et 25 minutes de chauffage ( $r$  de Spearman = 0,55 ;  $p < 0.05$ ).



**Figure 8: Relation entre le flux après 3 minutes de chauffage et le flux de repos**

### *Discussion*

La réponse maximale au chauffage locale semble permettre de reproduire des résultats en moyenne comparable entre deux sites de mesures ou entre deux expériences menés chez un même sujet, mais les résultats moyens cachent une assez grande variabilité individuelle. La valeur sous chauffage est en effet directement dépendante de la valeur du signal de base du laser doppler. Ce résultat est à mettre en parallèle avec l'hétérogénéité de la distribution des anses capillaires au niveau de la peau et implique qu'un soin particulier soit apporté au positionnement des sondes de laser en début de chaque expérience. Il est intéressant de noter que la réponse maximale sous chauffage est de l'ordre de 8 à 10 fois supérieure au signal basal chez ces sujets sains.

## **5. Volet 3 : Etude des effets médicamenteux lors du chauffage local**

### *But de ce volet*

Il est en général suggéré dans la littérature que la réponse vasculaire à un chauffage local est indépendante du contrôle nerveux de la microcirculation et résulte d'un effet direct de la chaleur sur la fibre musculaire lisse. Le but de ce volet du travail consiste à confirmer l'hypothèse selon laquelle le blocage du système des prostaglandines est dénué d'effet sur la réponse à un stimulus thermique local. Cela apparaît essentiel car l'aspirine est très largement utilisée en tant qu'anti-agrégant plaquettaire dans la population des sujets malades ou à haut risque vasculaire.

### *Méthode*

L'étude a été menée chez vingt sujets sains bien portant. Le matériel et la méthode d'enregistrement ont été détaillés au chapitre précédent volet 1 et ne seront pas repris ici.

Les sujets se sont vus proposer l'absorption d'un verre de jus d'orange contenant soit 1 gramme d'aspirine soit ne contenant rien (Placebo). Les mesures sont réalisées 2 heures plus tard à température ambiante. La technique d'étude de la réponse locale au chauffage a consisté en la réalisation d'un chauffage local de 25 minutes à 44°C

### *Résultats*

On n'observe pas de différence significative entre les expériences menées sous aspirine et sous placebo en ce qui concerne la valeur LDF de repos. L'application du chauffage local donne une vasodilatation comparable dans les deux groupes.

**Tableau 2: Moyenne +/-écart type du signal laser doppler de repos et après 24 minutes de chauffage local avec ou sans absorption préalable d'aspirine (unités arbitraires)**

baseline placebo	Baseline aspirine	Max chauffage placebo	Max chauffage aspirine
9,3+/-4,0	7,9+/-2,9	87,7+/-34,2	96,2+/-35,4

Il est intéressant de noter que l'ordre de grandeur de la réponse est, comme lors de la précédente série d'expériences de 10 à 14 fois la valeur du signal basal chez ces sujets.

### *Discussion*

Cette série d'expérience confirme l'absence d'effet du blocage du système des prostaglandines sur la réponse à une augmentation de température locale. Elle permet de confirmer que les effets éventuellement observés lors des études de chauffage global résulteront bien des actions systémiques de l'aspirine et non d'une modification de la réactivité locale de la microcirculation.

## **6 Volet 4 : Influence du diabète sur les capacités maximales de vasodilatation au chauffage local.**

### *But de ce volet :*

Deux publications récentes par Wick et al. (JAP 2005) et par l'équipe de Harvard (Veves et al.) ont suggérées une diminution de la capacité de vasodilatation chez les patients diabétiques et les sujets âgés lors d'une stimulation thermique locale. Cette diminution des capacités de vasodilatation est a rapprocher des études épidémiologiques confirmant une augmentation du

risque d'hospitalisation particulièrement marquée chez les sujets diabétiques lors des vagues de chaleur.

*Méthode :*

La méthodologie de chauffage local et d'enregistrement des données est la même que pour les expériences précédentes et ne sera donc pas décrite ici. Pour les patients diabétiques un bilan clinique complet comprenant La dernière valeur d'hémoglobine glyquée relevée dans le dossier, La glycémie à jeun à l'arrivé dans le service de diabétologie, Un bilan neurologique complet avec évaluation des signes éventuels de neuropathie diabétiques a été fait permettant le calcul du NSS ("neuropathy symptom score") et du NDS ("neuropathy disability score"). La détermination du seuil de perception du froid et du chaud. Le seuil de détermination des monofilaments de Semmes-Weinstein et le seuil vibratoire par neurothésiométrie. Enfin, un Doppler artériel afin de s'assurer de l'absence de macroangiopathie, avec mesure des index de pression systolique de cheville a été fait.

*Résultats:*

Les résultats des tests neurologiques et de macrocirculation ne seront pas présentés dans ce rapport.

Le tableau suivant présente les résultats des valeurs de laser doppler au repos et à l'issue de 25 minutes de chauffage local.

**Tableau 3 : Flux cutané de repos et de fin de chauffage chez 5 sujets diabétique et 5 sujets de plus de 65 ans.**

Baseline diabétique	baseline sujet agé	Fin de chauffage diabétique	Fin de chauffage sujet agé
17,2+/-6,1	16,3+/-5,9	107,5+/-61,9	106,0+/-86,9

Il est intéressant de noter que l'augmentation de température par rapport au signal de repos n'est que de 6 fois le signal basal ( 6,3+/-3,3 pour les sujets diabétiques et 6.1+/-3.8 pour le groupe des sujets âgés)

### *Discussion :*

Exprimée en valeurs absolue il n'existe pas de différence apparente entre les valeurs de fin de chauffage des patients de cette étude et les valeurs observées lors des précédents volet du travail. Par contre le signal basal a tendance à être plus élevé dans ces deux groupes que lors des études chez les sujets sains bien portants jeunes. L'augmentation du signal par rapport au signal de repos est donc près de 2 fois plus faible dans ces deux groupes que chez les sujets jeunes. Cela est cohérents avec les résultats précédents de la littérature et pourrait selon Charkoudian et al. Etre en rapport avec une diminution du tonus adrénergique vasoconstricteur de repos dans ces deux populations. En effet on observe une diminution de la réponse à un stimulus froid dans ces populations qui disparaît après blocage du système nerveux adrénergique par le bretylate de sodium.

La différence observée pourrait être liée à des différences de conditions expérimentales entre les études chez les sujets sains et les études réalisées chez le diabétique. En effet ce second travail a été entrepris après le déménagement des salles d'exploration de la microcirculation dans le nouveau service. Ce déménagement a permis de travailler dans des salles parfaitement climatisée permettant d'obtenir un meilleur confort thermique des sujets. Il n'est donc pas exclu que le niveau basal observé résulte de différences dans les conditions environnementales.

## **7. Volet 5 : Etude des effets médicamenteux sur la vasodilatation courant induite.**

### *But de ce volet :*

Dans le cadre d'études cliniques, l'iontophorèse couplée au débitmètre laser Doppler est une technique fréquemment utilisée pour évaluer les propriétés vasomotrices cutanées. L'iontophorèse peut être définie par le mouvement d'ions à travers la peau sous l'influence d'une différence de potentiel électrique (Chien 78, 353, 1989). Le courant électrique représente une source d'énergie extérieure permettant d'augmenter le taux de pénétration des molécules ionisées à travers la barrière épidermique. Cette technique utilise des courants de faible intensité (inférieure au mA) pour faire diffuser des molécules pharmacologiques à un niveau local en

évitant toute action systémique de ces molécules. L'utilisation en clinique est facilitée par le fait que cette technique est non douloureuse (seuls des picotements au niveau cutané sont parfois ressentis). La débitmètrie laser Doppler permet de détecter des changements rapides de débit et d'obtenir une étude dynamique.

L'utilisation accrue de l'iontophorèse a permis de mettre en évidence une variation du débit sanguin cutané en absence de molécule ionisée (iontophorèse d'eau désionisée) (Asberg, 58 41 1999, Grossmann 50 444 1995). Cette vasodilatation cutanée induite par l'application du courant lui-même constitue un test simple de la capacité vasomotrice de la peau. Ce test offre une méthodologie d'exploration des variations du débit sanguin cutanées applicable à une grande variété de sujet sans inconvénient majeur. Cette méthodologie a été retenue pour tester l'effet de substances pharmacologiques telles que les antipyrétiques.

### *Dispositif expérimental*

L'observation de la réponse vasculaire était réalisée sur l'avant bras de sujets volontaires sains. Le dispositif expérimental comprenait un générateur de courant relié à un patch d'iontophorèse sur lequel était disposé une sonde laser Doppler et à un patch neutre. Un thermocouple et une sonde laser de référence étaient également utilisés pour s'assurer de la stabilité de la température cutanée et de débit sanguin cutané sur une zone non stimulée électriquement.

La période d'acclimatation avait pour but de stabiliser les variables thermiques et cardiovasculaires du sujet. Après cette période et la mise en place du dispositif expérimental, l'enregistrement débutait par une période de repos de 2 minutes suivie d'une application de courant de durée variable. Après cette stimulation une période de 20 minutes était observée pour permettre le déroulement de la réponse vasculaire.

Les paramètres enregistrés en continu comprenaient le débit sanguin cutané mesuré avec un débitmètre laser Doppler, la température cutanée mesurée avec le thermocouple ainsi que la pression artérielle moyenne.

Dans des études antérieures à ce projet, nous avons mis en évidence que l'absorption d'un antipyrétique, l'aspirine à forte dose (1g), s'accompagne d'une abolition prolongée (7 jours) de la vasodilatation cutanée courante induite chez les sujets sains jeunes (Durand 540 261 2002, Durand, 137, 384 2002). Ce résultat suggère une altération prolongée des propriétés de régulation du débit sanguin cutané lors de l'absorption d'une forte dose d'aspirine. Cette action de l'aspirine sur la microcirculation pourrait avoir un effet délétère sur la thermorégulation en limitant l'élimination de la chaleur. La prise d'aspirine pourrait donc s'avérer dangereuse pour l'organisme humain en environnement chaud.

Afin de déterminer l'action des antipyrétiques sur la microcirculation, nous avons étudié l'effet d'un autre antipyrétique, l'indométacine, sur la vasodilatation cutanée courante induite.

8 sujets volontaires sains ont participé à cette étude. Chaque sujet a participé à 2 mesures de la vasodilatation cutanée courante induite sur l'avant bras. Les mesures ont été réalisées 2 heures après la dernière prise d'un traitement de 4 jours avec un l'indométacine (75 mg), de célécoxib (200 mg) ou un placebo.

Résultats :

### **Effet de l'indométacine sur la vasodilatation cutanée courante induite**

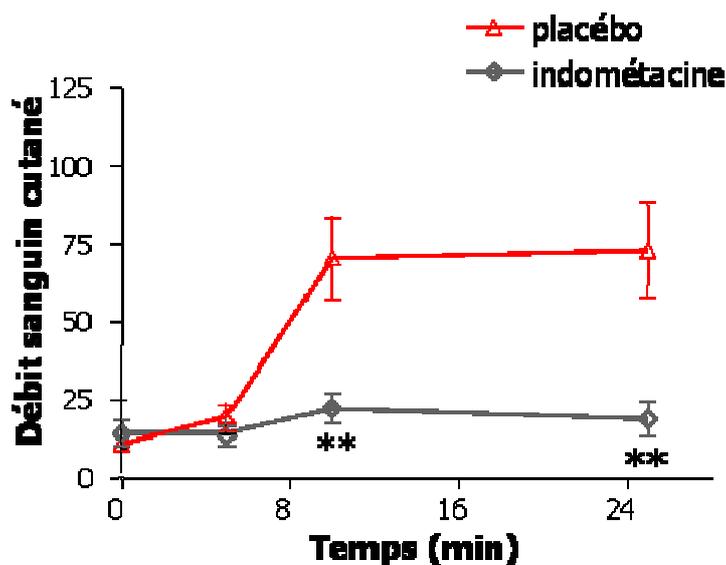


Figure 9 : effet de l'inhibition des COX 1 & 2 par l'indocid sur la réponse de vasodilatation courante induite

Les résultats montrent qu'un traitement de 4 jours avec 75 mg d'indométacine s'accompagne d'une abolition de la vasodilatation cutanée courante induite. La réponse ne semble pas altérée sous inhibiteur des cyclo-oxygénase de type 2. (figure ci dessous).

### Effet du célécoxib sur la vasodilatation cutanée courante induite

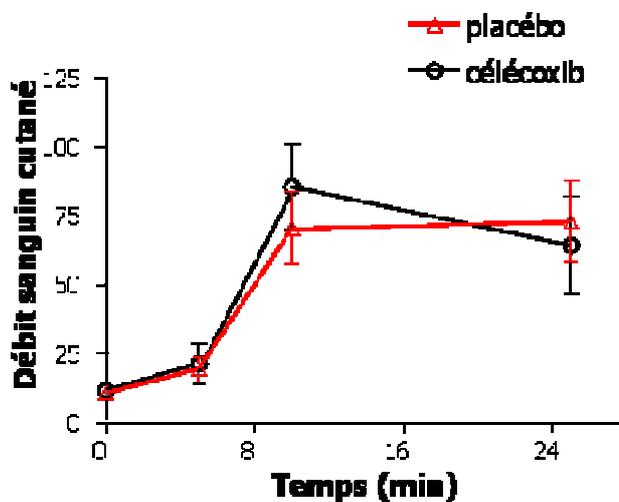


Figure 10 : effet de l'inhibition de la COX2 sur la réponse de vasodilatation courante induite

#### Discussion

En cas d'hyperthermie infectieuse dans des conditions thermiques confortables, les antipyrétiques (aspirine et indométacine) contribuent à diminuer la température corporelle interne. Les résultats de notre étude montrent que ces mêmes antipyrétiques bloquent l'augmentation du débit sanguin cutané induite par une stimulation autre que l'infection. Si ce blocage de l'augmentation du débit sanguin par les antipyrétiques est présente lors de l'accroissement excessif de la température ambiante, les antipyrétiques pourraient s'avérer délétère pour éliminer la chaleur corporelle et donc dangereux pour la santé.

L'aspirine et l'indométhacine outre leur utilisation comme antipyrétiques ont une action anti-inflammatoire qui justifie leur utilisation fréquente dans l'ensemble de la population. L'action anti-inflammatoire de ces deux substances passe par l'inhibition des cyclooxygénases, enzymes responsables de la synthèse de substances vasodilatatrices. Les cyclooxygénases sont constituées de deux isoformes dont l'une, la cyclooxygénase de type 2 est impliquée dans les phénomènes inflammatoires alors que la cyclooxygénase de type 1 est impliquée dans les mécanismes d'homéostasie. L'inhibition de cette dernière par les anti-inflammatoires classiques tels que l'aspirine et l'indométacine serait responsable d'effets secondaires gênants.

Afin de limiter ces effets secondaires, les pharmacologues ont développé un inhibiteur spécifique de la cyclooxygénase de type 2, le célécoxib (Célébrex<sup>®</sup>, Pfizer, France). Nous avons évalué l'effet de ce nouvel anti-inflammatoire sur la vasodilatation cutanée courante induite.

Les résultats de cette étude montrent que le célécoxib permet le développement de la vasodilatation cutanée courante induite. Ainsi, contrairement à l'aspirine et à l'indométacine, l'utilisation de célécoxib préserve les propriétés de vasodilatation induite par l'excitation des fibres afférentes primaires.

Les traitements anti-inflammatoires sont fréquemment prescrits pour des douleurs, indépendamment des conditions météorologiques. Les résultats de cette étude suggèrent que le choix de l'anti-inflammatoire pourrait avoir des conséquences importantes sur la régulation de la circulation cutanée. Il n'est pas exclu que le célécoxib devrait être préféré par les cliniciens car contrairement aux autres anti-inflammatoires non COX-2 spécifique (aspirine et indométacine), il préserve les possibilités d'augmenter le débit sanguin cutané dans ce modèle spécifique. Reste à tester le rôle éventuel des cyclo-oxygénases dans la réponse directe et indirecte à un stress thermique global.

## **8. Volet 6 : Etude des effets du chauffage global. Mise au point méthodologique chez les sujets sains**

### *But de ce volet*

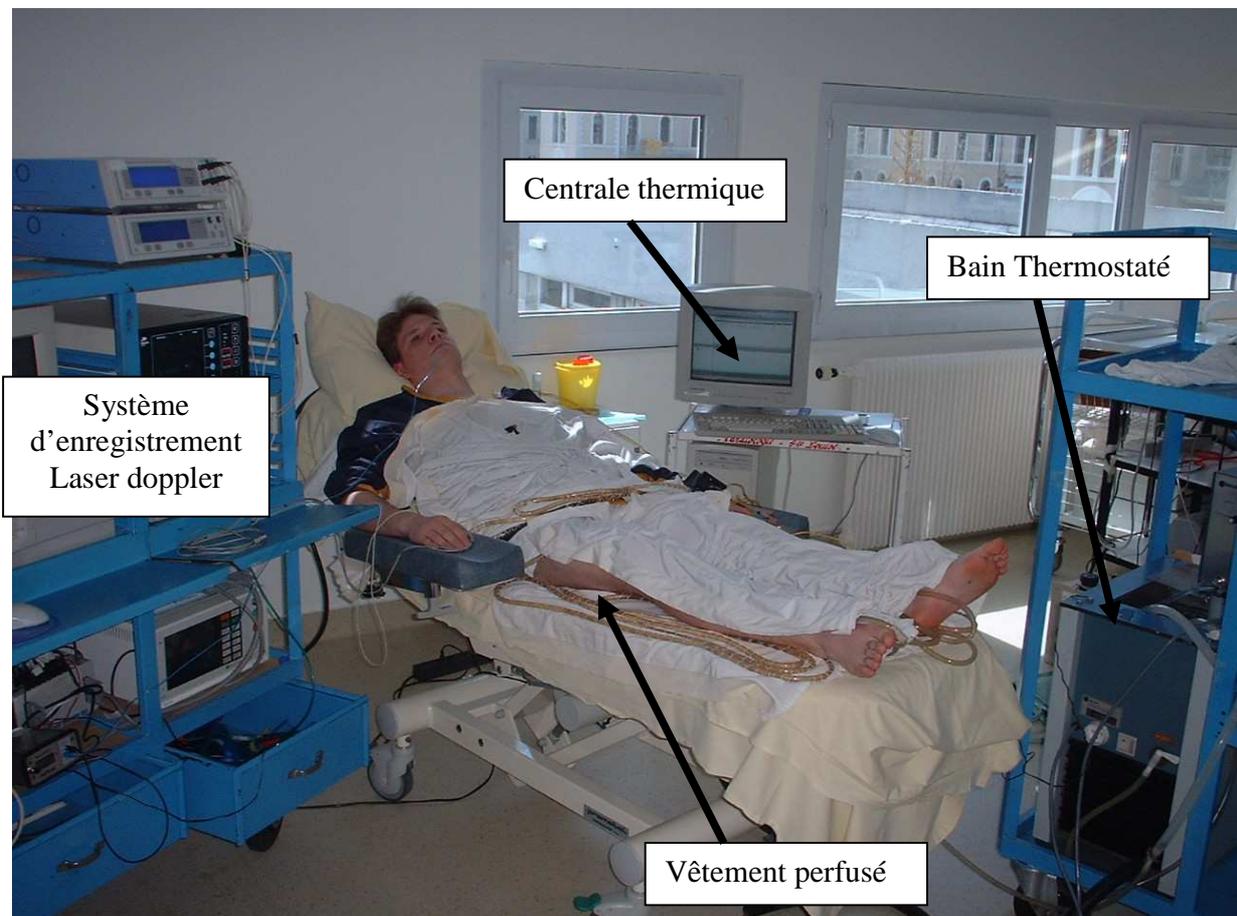
L'une des méthodologies testée pour étudier l'adaptation de l'organisme à la chaleur a été la réalisation d'un chauffage global de l'organisme à l'aide d'un vêtement perfusé avec de l'eau chaude. Cette méthodologie induit un stress thermique important qui s'accompagne d'une augmentation de la température corporelle interne et périphérique. Pour lutter contre cette augmentation, l'organisme met en jeu des mécanismes d'adaptation de la microcirculation cutanée. Ainsi, l'augmentation de la température corporelle (centrale et périphérique) s'accompagne d'une augmentation du débit sanguin cutané dans le but de limiter l'hyperthermie. (Figure 1; courbe d'évolution du débit sanguin avec vêtement perfusé). Il est toutefois à noter que cette technique bien qu'efficace pour augmenter la température corporelle interne du sujet est contraignante pour le sujet.

Les travaux récents de Charkoudian et al. ont montrés l'importance de la détection correcte du seuil thermique dans la réponse cutanée vasodilatatrice lors d'un chauffage global. En effet il pourrait y avoir une différence de réponse microcirculatoire entre les sujets sains et les sujets présentant des pathologies chroniques telles le diabète.

Le but de ce volet de l'étude a été de mettre au point la méthodologie de mesure du seuil de vasodilatation chez les sujets sains et d'étudier sa reproductibilité.

### *Dispositif expérimental*

Le chauffage global est obtenu par un vêtement perfusé fabriqué au sein du laboratoire. Il s'agit d'une combinaison de tissu couvrant le torse et les jambes à la surface de laquelle sont cousus des tuyaux de caoutchouc. Par l'intermédiaire d'une pompe à eau de puissance suffisante on fait circuler l'eau dans les tuyaux. Un système de bain thermostaté permet de réguler la température de l'eau entre 44 et 45°C. La photographie ci dessous montre un sujet installé avant fermeture complète du vêtement et mise en place des couvertures. La sonde laser doppler est visible sur le bras droit.



**Figure 11: Dispositif de chauffage global (avant mise en place des couvertures)**

Les températures cutanées sont enregistrées grâce à une centrale thermique PC10 (AOIP Evry France) permettant le calcul de la température cutanée moyenne par intégration de six mesures simultanée pondérée conformément aux travaux de J. Johnson et collaborateurs (San Antonio USA). La température centrale est relevée par mesure de la température sub-linguale.

Le signal laser doppler est enregistré sur l'avant bras (zone non chauffée) selon les modalités décrites dans les précédents chapitres et qui ne seront donc pas reprises ici. La tension artérielle est enregistrée en continu afin de permettre le cas échéant le calcul de la conductance vasculaire et surveiller la tolérance hémodynamique du stress thermique.

### Dispositif expérimental

Après deux minutes de repos l'eau (44°C) est mise à circuler dans le vêtement à un débit de 2 litres minutes.

La durée de chaque expérience est définie par l'élévation du signal laser et de la température centrale. Chaque expérience est poursuivie jusqu'à obtenir une élévation de température centrale de 0.6°C minimum et une multiplication par 2.5 ou plus du signal doppler observé pendant la période de repos. Par mesure de sécurité Les expériences sont systématiquement arrêtée pour une élévation de température centrale de 1.0 °C maximum Une telle augmentation est obtenue en général en 60 à 90 minutes. La durée moyenne des mesures est donc d'environ 1 heure.

### Analyse des résultats

On défini comme seuil d'apparition de la vasodilatation, la variation de température centrale nécessaire à obtenir 20% de la variation observée pour une élévation de température centrale de 0.6°C.

### Résultats

Un exemple typique d'enregistrement est présenté sur la figure ci dessous. Il illustre particulièrement l'inertie importante au début des expériences et l'observation. La voie trois et la voie 4 représentent respectivement la température centrale (buccale) et le débit cutané.

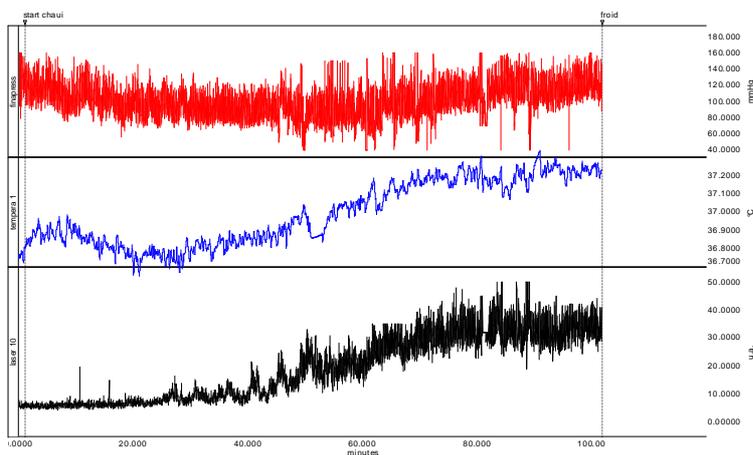


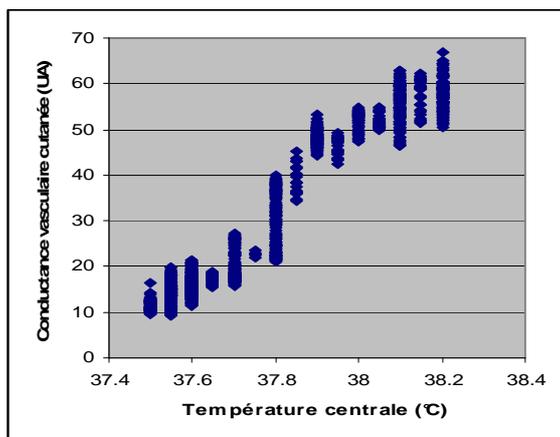
Figure 12: Réponse de la température centrale, du débit cutané et de la pression artérielle au chauffage global.

Les résultats individuels après analyse filtrage et lissage des courbes et exprimés par intervalle de 0.05°C sont rapportés dans le tableau suivant

**Tableau 4: Débit cutané moyen en fonction des variations de température centrale**

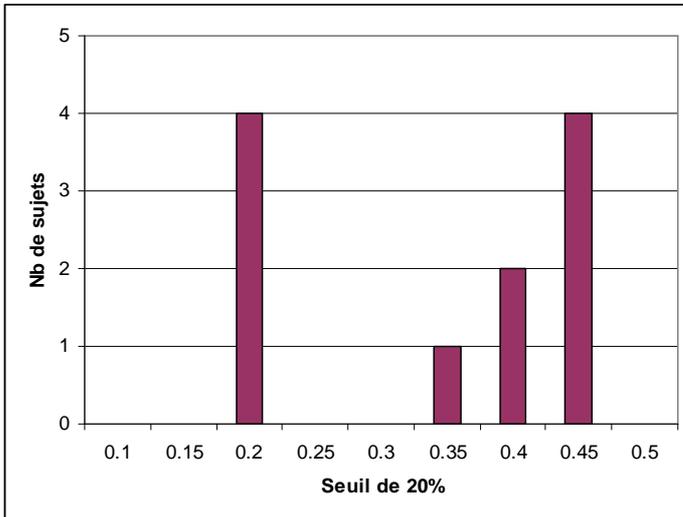
Temp	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
0.00	15.2	9.5	5.7	13.7	24.4	9.3	12.3	11.3	8.2	7.9	17.0
0.05	14.5	10.6	6.0	14.7	23.5	9.4	12.3	11.0	7.7	8.4	16.3
0.10	19.0	10.8	7.9	15.4	24.5	9.2	12.2	11.0	7.9	7.9	15.4
0.15	20.9	11.5	10.2	16.0	23.0	10.6	12.9	11.2	8.3	8.0	15.9
0.20	21.3	11.2	11.2	18.1	25.1	11.3	13.1	11.3	8.1	8.4	16.9
0.25	26.8	15.3	17.8	23.9	24.4	11.0	14.3	12.0	7.9	7.7	15.2
0.30	26.9	17.2	22.8	26.5	25.8	11.0	15.7	13.0	7.8	8.0	15.4
0.35	35.2	22.9	32.3	32.1	26.0	10.9	16.2	12.3	8.8	9.8	16.5
0.40	47.3	26.2	30.9	38.9	27.3	10.9	16.9	12.9	10.9	12.5	18.7
0.45	50.3	28.2	26.9	38.4	31.7	12.8	19.7	15.0	12.1	15.9	19.9
0.50	51.1	31.2	34.0	41.5	34.0	13.4	20.1	16.3	13.2	22.0	21.0
0.55	52.2	31.6	35.6	39.7	43.1	16.0	25.6	20.0	14.8	24.4	22.1
0.60	54.7	32.7	39.9	46.9	44.9	18.7	31.4	22.8	14.3	27.7	22.3
0.65	54.7	33.9	44.5	45.6	60.1	24.6	42.2	32.6	16.6	30.8	24.2
0.70	56.2	34.1			61.2				17.6	34.9	25.0
0.75									19.1	37.1	26.2
0.80									21.8	37.4	28.2
0.85									23.1		30.8
0.90									29.4		41.0
0.95									30.6		

On peut, pour chaque mesure, établir la relation entre la température centrale et le débit cutané. Le seuil d'apparition de la vasodilatation est particulièrement net dans l'exemple ci-dessous mais il souvent moins marqué en pratique. L'exemple présenté sur la figure suivante illustre bien le point d'inflexion (Ici à 37,8°C) de la relation débit cutané température centrale.



**Figure 13: Relation température centrale – conductance vasculaire chez un sujet sain bien portant**

En pratique le seuil d'apparition de la vasodilatation ou cours de cette étude est en moyenne de 0.35°C mais avec une forte variabilité en fonction des résultats comme illustré ci dessous.



**Figure 14: Seuil de température donnant 20% de l'augmentation du signal cutané observé pour une variation de température centrale de 0.6°C**

### *Discussion*

Si les résultats moyens sont comparables à ceux rapportés très récemment par Charkoudian et al. On observe que le seuil thermique est soumis a une forte variabilité d'une mesure à l'autre. L'origine de cette variabilité reste à définir. Etat antérieur du sujet ? Conditions environnementales extérieures (température, humidité ...) ? Cinétique d'augmentation de la température sous le vêtement perfusé ?

Sous couvert des conditions de sécurité que nous nous étions imposées, le protocole semble bien toléré par les sujets sains malgré le désagrément lié à l'immobilité et la sudation.

La température sub-linguale a été préférée à la température oesophagienne car mieux acceptable par le sujet elle semble plus pertinente (moindre inertie) que la température rectale lors des

mesures et des essais préliminaires réalisés. Enfin la mesure de température tympanique ne peut être réalisée en continu par méthode infrarouge et semble mal tolérée par thermocouple.

## **9. Conclusion générale**

Les épisodes de canicule exposent l'organisme humain à de graves dangers comme la déshydratation, l'aggravation d'une maladie chronique, le coup de chaleur voir la mort. Pour lutter dans l'avenir de manière efficace, l'exploration des mécanismes d'adaptation de l'organisme est un pré requis essentiel.

Les travaux exposés précédemment et réalisés avec l'aide du Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable ont permis la mise au point d'une méthodologie d'exploration du débit sanguin cutané dont les variations sont indispensables à la régulation de la température corporelle. Cette méthodologie est parfaitement adaptée à l'observation des effets physiopathologiques de la canicule. Son caractère non invasif offre en outre des possibilités d'utilisation sur les populations à risque et dans le cadre clinique.

Les cliniciens font parties des premiers acteurs de la santé publique et doivent par leur connaissance permettre aux sujets de bénéficier de traitements médicamenteux appropriés. L'effet des traitements antipyrétiques prescrits dans le but de limiter l'hyperthermie infectieuse a fait l'objet d'un volet de notre étude. Nous savons maintenant que l'absorption d'antipyrétique s'accompagne chez le sujet sain d'une altération des propriétés vasomotrices cutanée. Cette altération pourrait amplifier les effets de la canicule en retardant l'adaptation du débit sanguin cutané au stress thermique. Il en est de même pour les anti-inflammatoires classiques tels que l'aspirine ou l'indométacine. En revanche, le célécoxib, anti-inflammatoire récemment mis sur le marché ne limite pas les possibilités d'augmentation du débit sanguin cutané. Ces résultats sont susceptibles de remettre en question l'utilisation de certains traitements antiagrégants plaquettaires chez des personnes présentant des risques majeurs d'inadaptation en ambiance chaude. La mise au point du modèle de stimulation thermique globale a permis de confirmer la bonne tolérance des expérimentations sous réserve d'une surveillance continue des sujets car une fois les mécanismes de compensation « dépassés », l'élévation de la température centrale n'est pas linéaire avec le temps.

## 10. Références :

- Caballero AE, Arora S, Saouaf R, Lim SC, Smakowski P, Park JY, King GL, LoGerfo FW, Horton ES, Veves A: Microvascular and macrovascular reactivity is reduced in subjects at risk for type 2 diabetes. *Diabetes* 48:1856-1862, 1999
- Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield JE: Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* Nov 7; 340(8828):1111-5, 1992
- Furchgott RF, Zawadzki JV: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288:373-376, 1980
- Hamdy O, Abou-Elenin K, LoGerfo FW, Horton ES, Veves A: Contribution of nerve-axon reflex-related vasodilation to the total skin vasodilation in diabetic patients with and without neuropathy. *Diabetes Care* 24:344-349, 2001
- Higashi Y: New methods to evaluate endothelial function: method for assessing endothelial functions in humans using a strain-gauge plethysmography: nitric oxide-dependent and -independent vasodilation. *J Pharmacol Sci* Dec; 93(4):399-404, 2003
- Heitor MORENO Jr, Ascorbic acid improves impaired venous and arterial endothelium-dependent dilation in smokers. *Acta Pharmacologica Sinica* Apr; 26 (4):447-452, 2005
- Kraml P, Syrovatka P, Stipek S, Fialova L, Koprivova H, Potockova J, Anzel M: Hyperlipoproteinemia impairs endothelium-dependent vasodilation. *Physiol Res* 53(5):471-80, 2004
- Labhasetwar V, Underwood T, Schwendeman SP, Levy RJ: Iontophoresis for modulation of cardiac drug delivery in dogs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:2612-2616, 1995
- Moncada S, Vane JR: The role of prostacyclin in vascular tissue. *Fed Proc* 38:66-71, 1979
- McGuire JJ, Ding H, Triggle CR: Endothelium-derived relaxing factors: a focus on endothelium-derived hyperpolarizing factor(s). *Can J Physiol Pharmacol* 79:443-470, 2001
- Nagao T, Illiano S, Vanhoutte PM: Heterogeneous distribution of endothelium-dependent relaxations resistant to NG-nitro-L-arginine in rats. *Am J Physiol* 263:H1090-1094, 1992
- P. A., Economides, A. Caselli, Elizabeth Tiani, Lalita Khaodhiar, Edward S. Horton and Aristidis Veves.: The Effects of Atorvastatin on Endothelial Function in Diabetic Patients and Subjects at Risk for Type 2 Diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* Vol.89, No.2:740-747, 2004
- Palmer RM, Ashton DS, Moncada S: Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 333:664-666, 1988
- Shubha Shastry and Michael J. Joyner: Geldanamycin attenuates NO-mediated dilation in human skin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 282: H232-H236, 2002

## 11. Annexes : Liste des abréviations

<b>ACh</b> .....	<b>Acétylcholine</b>
<b>AMPc</b> .....	<b>Adénosine monophosphate cyclique</b>
<b>CVC</b> .....	<b>Conductance vasculaire cutanée</b>
<b>EDHF</b> .....	<b>Facteur hyperpolarisant endothélial</b>
<b>EDRF</b> .....	<b>Facteurs endothéliaux de relaxation</b>
<b>GMPc</b> .....	<b>Guanosine monophosphate cyclique</b>
<b>L-NAME</b> .....	<b>NG-nitro-L-arginine ester méthylique</b>
<b>L-NMMA</b> .....	<b>NG-monométhyl-L-arginine</b>
<b>NO</b> .....	<b>Monoxyde d'azote</b>
<b>NOS</b> .....	<b>NO Synthase</b>
<b>PG</b> .....	<b>Prostaglandine</b>
<b>PGI<sub>2</sub></b> .....	<b>Prostacycline</b>
<b>°C</b> .....	<b>Degré centigrade</b>

## 12. Annexes : Liste des Figures

Figure 1 : Principe du laser Doppler .....	7
Figure 2: Couplage iontophorèse-laser Doppler au niveau anodal .....	9
Figure 3: Dispositif de iontophorèse au niveau de l'avant bras .....	9
Figure 4: La conception de la chambre d'iontophorèse .....	13
Figure 5: Réponse moyenne à l'acétylcholine et au chauffage sur la chambre de iontophorèse et le patch .....	16
Figure 6: Ecart type de la réponse à l'acétylcholine et au chauffage sur la chambre de iontophorèse et le patch .....	16
Figure 7 : Enregistrement Laser doppler au cours de chauffage (la voie 1 et 3 sont réalisées après traitement local par EMLA et scopolamine) .....	19
Figure 8: Relation entre le flux après 3 minutes de chauffage et le flux de repos .....	21
Figure 9 : effet de l'inhibition des COX 1 & 2 par l'indocid sur la réponse de vasodilatation courant induite .....	27
Figure 10 : effet de l'inhibition de la COX2 sur la réponse de vasodilatation courant induite .....	28
Figure 11: Dispositif de chauffage global (avant mise en place des couvertures) .....	31
Figure 12: Réponse de la température centrale, du débit cutané et de la pression artérielle au chauffage global. ....	32
Figure 13: Relation température centrale – conductance vasculaire chez un sujet sain bien portant .....	33
Figure 14: Seuil de température donnant 20% de l'augmentation du signal cutané observé pour une variation de température centrale de 0.6°C .....	34

### 13. Annexes : Liste des Tableaux

Tableau 1 Moyenne et s.e.m pour les deux types de sondes (patch et chambre) pour n=9, utilisation d'un unpaired t test pour comparer les moyennes et d'un F test pour la variance.	17
Tableau 2: Moyenne +/-écart type du signal laser doppler de repos et après 24 minutes de chauffage local avec ou sans absorption préalable d'aspirine (unités arbitraires).....	23
Tableau 3 : Flux cutané de repos et de fin de chauffage chez 5 sujets diabétique et 5 sujets de plus de 65 ans. ....	24
Tableau 4: Débit cutané moyen en fonction des variations de température centrale .....	33