

# Erythropoïétine recombinante et performance aérobie : facteurs centraux vs périphériques ; rôle de l'hypoxie

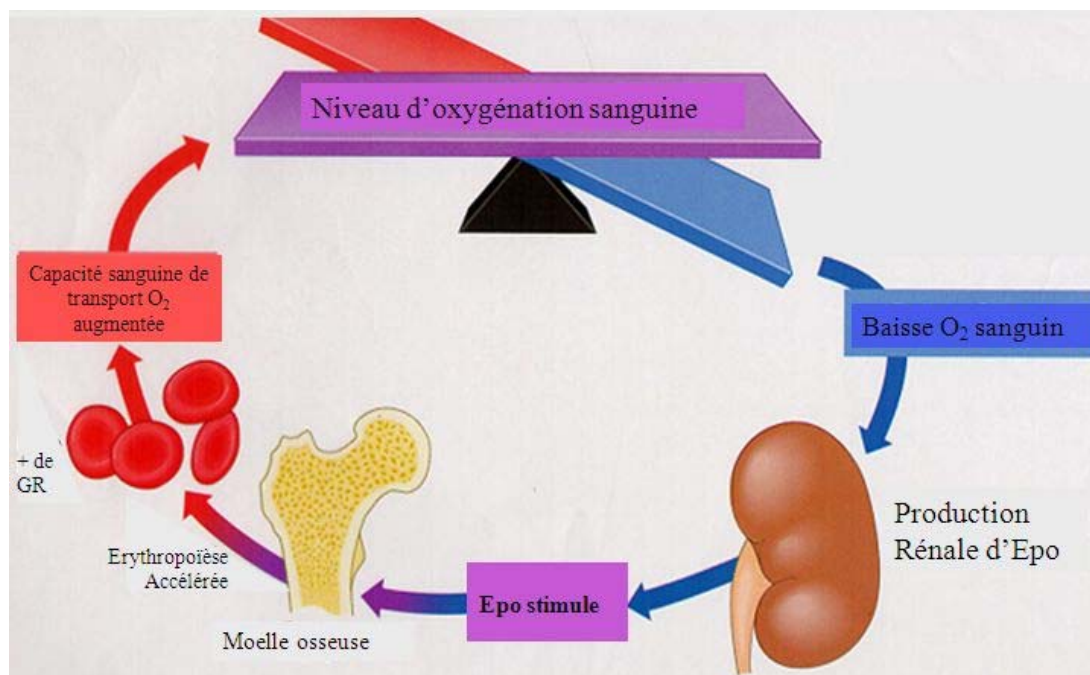
**Monsieur Paul ROBACH**

Je souhaite tout d'abord remercier les organisateurs de ce symposium et le professeur Jean-François Toussaint, qui me fait l'honneur de cette invitation.

J'ai choisi de vous parler de l'érythropoïétine recombinante, qui a une grande influence sur le transport de l'oxygène, dans une perspective physiologique.

L'EPO est une glycoprotéine sécrétée par le rein. Sa demi-vie est très courte, d'environ six heures. Il s'agit d'ailleurs de l'une des raisons pour lesquelles sa détection pose certains problèmes.

L'EPO endogène intervient principalement lorsque la pression d'oxygène dans le sang et la pression d'oxygène rénale sont basses. L'EPO agit alors sur des précurseurs érythroïdes en empêchant leur mort, ce qui permet la prolifération de ces précurseurs. En cas de diminution du taux d'oxygénation dans le sang, le rein produit de l'EPO, qui agit sur la moelle osseuse. Cette dernière fabrique davantage de globules rouges. En retour, la capacité de transport de l'oxygène augmente, ce qui vise à rétablir le niveau d'oxygénation sanguine.



**Régulation de l'érythropoïèse par l'Epo**

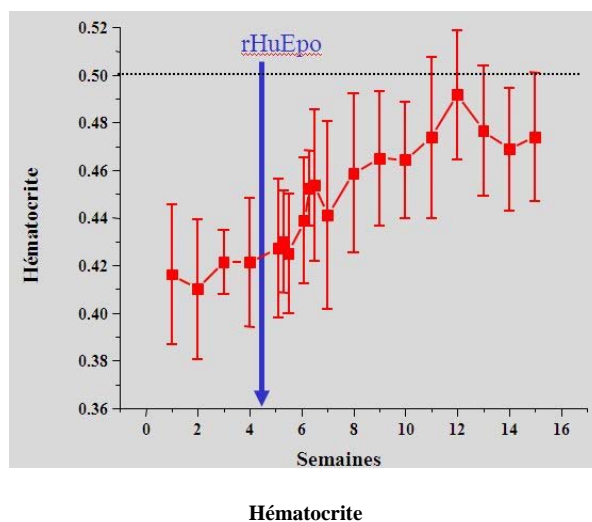
La variante recombinante de l'EPO a été commercialisée dans les années 1986. Il s'agit d'une avancée thérapeutique majeure, qui a permis de traiter des insuffisants rénaux chroniques et des

anémiques chroniques. L'EPO est également utilisée à présent dans certains cas de troubles neurologiques.

L'étude de l'EPO recombinante est d'un grand intérêt, car elle donne des éléments clés sur la fabrication des globules rouges. Nous constatons également de nombreux effets non hématologiques de l'EPO, notamment au niveau tissulaire. En outre, lorsqu'un sujet est soumis à l'hypoxie, il sécrète de l'EPO. Lorsque l'EPO recombinante est utilisée, l'érythropoïèse est isolée.

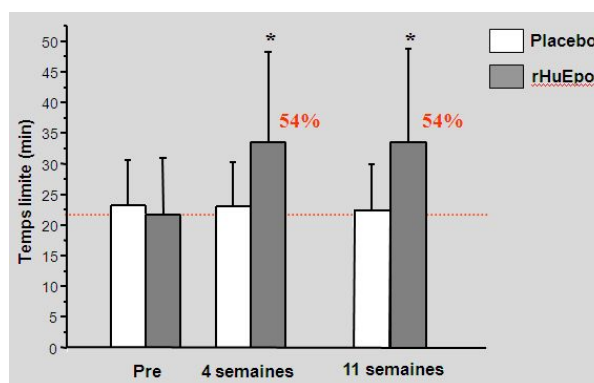
Je ne traiterai pas dans cet exposé de la problématique des effets indésirables et des risques de l'EPO pour la santé chez les personnes en bonne santé, ni de la problématique de la détection de l'EPO.

Lors d'une étude réalisée à Copenhague, de faibles doses d'EPO ont été données à des sujets sains, fréquemment au début du traitement, puis de façon hebdomadaire. L'hématocrite augmente alors progressivement au cours du temps, tout en restant en-deçà de 50 %.



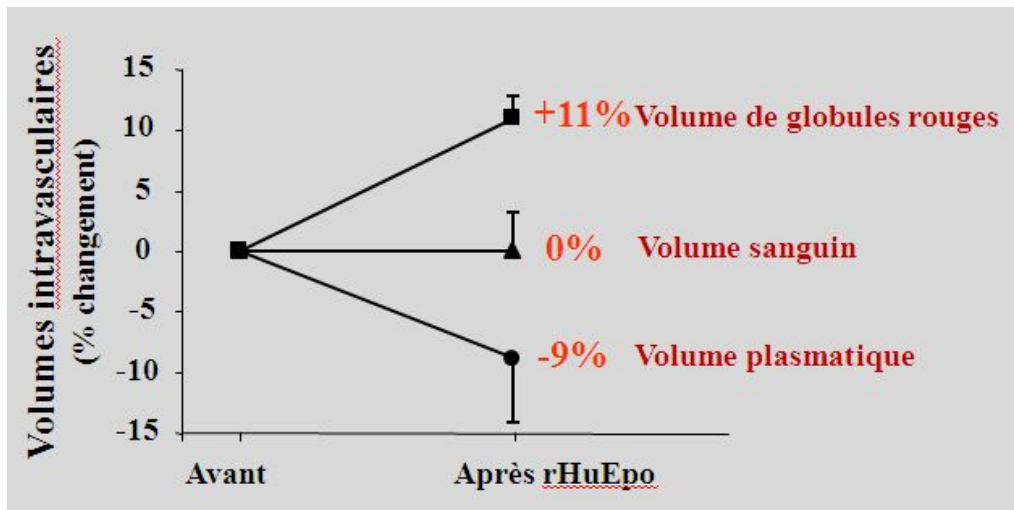
Hématocrite

Quel est l'effet quantitatif de l'EPO recombinante sur la performance au niveau de la mer ? Les études indiquent une augmentation de la VO<sub>2</sub> max entre 5 et 10 %, lorsque le sujet est soumis au traitement de façon prolongée, ce qui est important. Les performances en endurance augmentent quant à elles de 50 %. A quoi est due cette augmentation de performance ?



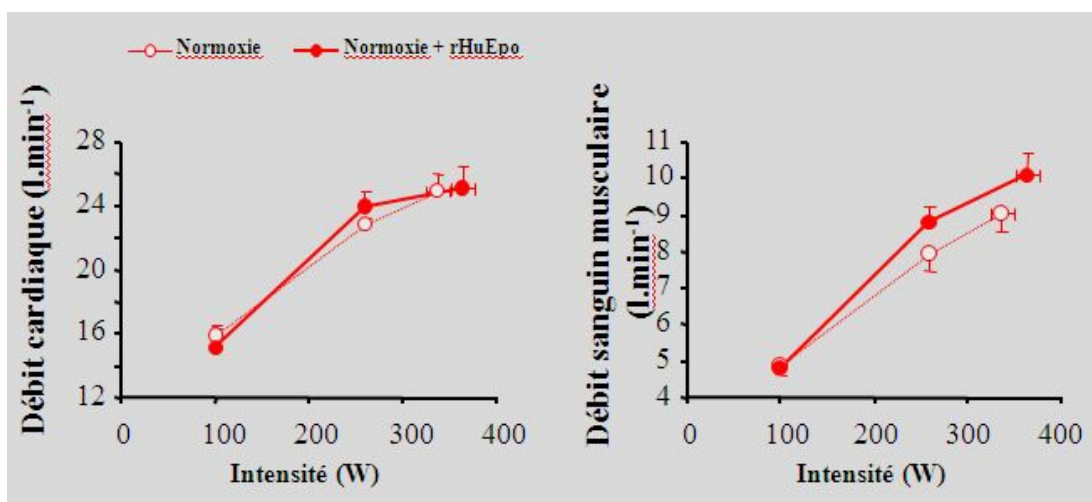
rHuEpo et endurance (temps limites à 80% de VO<sub>2</sub>max)

En cas de traitement à l'EPO recombinante, nous remarquons une augmentation du volume de globules rouges, de l'ordre de 10 %, ce qui influe sur l'augmentation du CaO<sub>2</sub> et donc sur la performance. Dans le même temps, nous remarquons une contraction du volume plasmatique équivalente. Celle-ci contribue à augmenter le contenu artériel en oxygène.



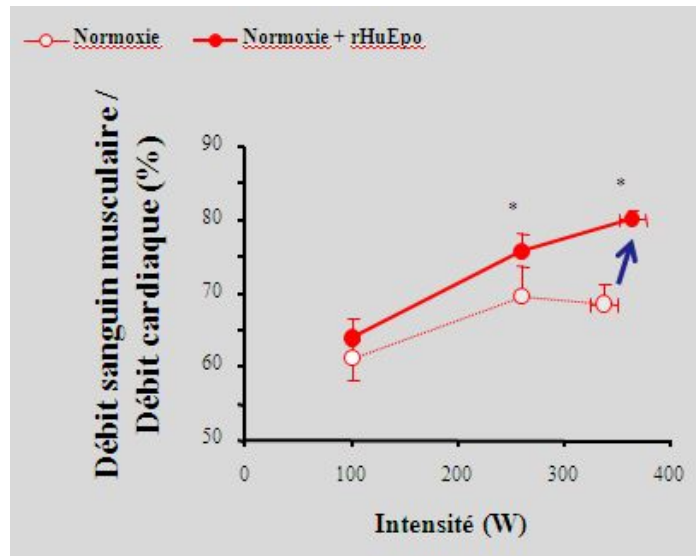
rHuEpo : augmentation de la CaO<sub>2</sub>

En ce qui concerne les modifications cardiovasculaires, je vous présenterai une étude que nous avons menée et durant laquelle nous avons mesuré le débit cardiaque lors d'un test de VO<sub>2</sub> max, ainsi que le débit sanguin musculaire, avant et après EPO. Nous ne notons pas de changement dans le débit cardiaque et une légère augmentation du débit sanguin musculaire dans les jambes.



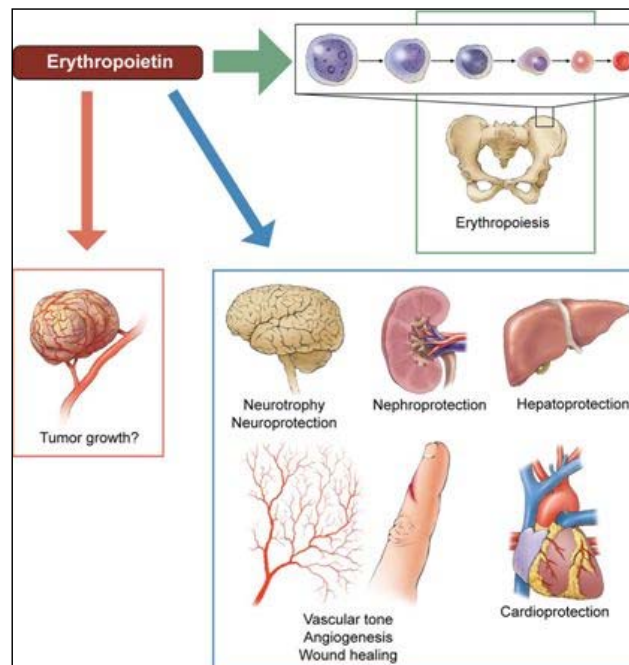
Débit cardiaque et débit sanguin musculaire après rHuEpo

Nous observons cependant une redistribution du débit cardiaque au profit des muscles actifs, ce qui favorise l'augmentation de la performance.



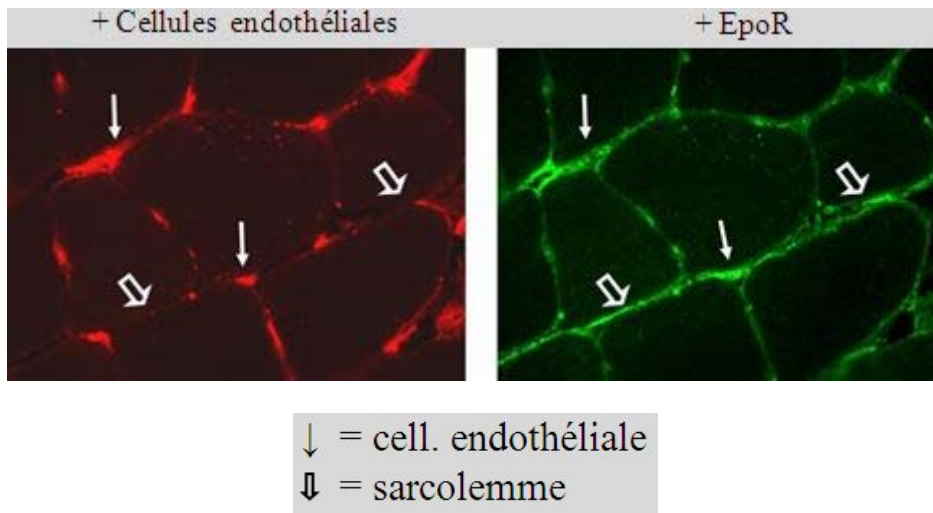
rHuEpo : redistribution du débit cardiaque vers les muscles actifs

Depuis une dizaine d'années, de nombreuses équipes travaillent sur les effets non hématologiques de l'EPO. Des effets protecteurs ont ainsi notamment été constatés, pour le foie, le cœur, le rein. La question du rôle de l'EPO sur la croissance tumorale doit également encore être étudiée. Il y a des récepteurs à l'EPO dans la plupart des tissus de l'organisme. L'EPO a donc probablement un rôle tissulaire.



Effets non hématologiques de l'Epo

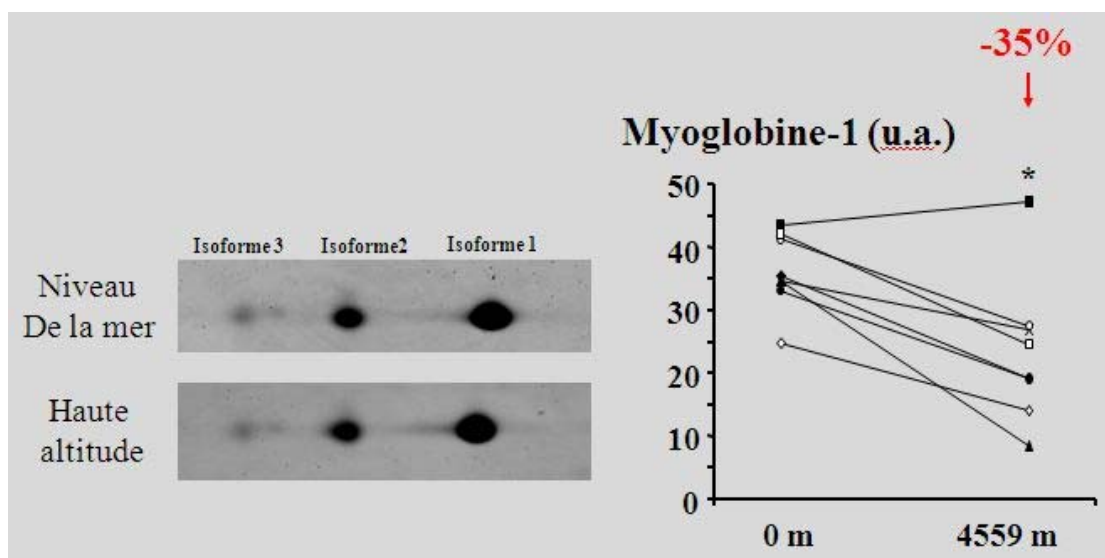
Nous nous sommes pour notre part intéressés aux effets de l'EPO sur les tissus musculaires. Une étude danoise a montré que des récepteurs à l'EPO étaient situés dans le muscle squelettique humain. Plus récemment, une autre équipe scandinave a mis en évidence des résultats similaires.



Muscle squelettique humain: localisation des récepteurs Epo (EpoR)

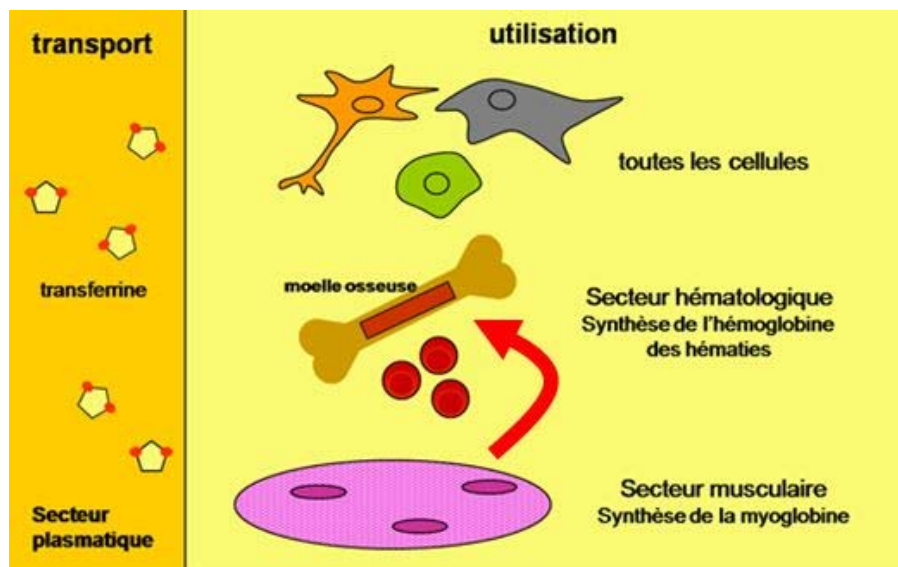
Ces récepteurs ont-ils un rôle fonctionnel ? Pour répondre à cette question, l'équipe danoise a soumis ses sujets à un traitement prolongé à l'EPO et s'est penchée sur l'influence de ce traitement sur les caractéristiques des fibres et des capillaires musculaires. Elle n'a constaté aucun changement, ce qui remet en cause le lien entre ces récepteurs à l'EPO et les effets de l'EPO sur les muscles. Cette fonctionnalité des récepteurs à l'EPO dans les tissus non hématopoïétiques a été remise en cause récemment, par deux publications, dans la revue Blood.

Je rappelle en outre que la myoglobine joue un rôle sur la performance et permet de faciliter le transport d'oxygène entre les capillaires et la mitochondrie. Elle permet également de stocker l'oxygène au sein du muscle. Nous avons montré lors d'une étude que, lorsque les sujets sont exposés à la haute altitude, la myoglobine diminue de façon notable.



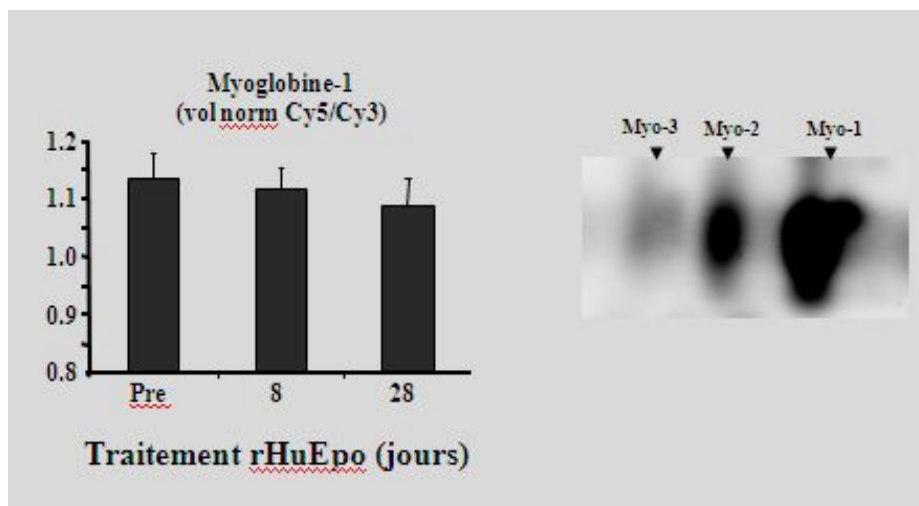
En hypoxie : diminution de la myoglobine

Nous avons supposé que le métabolisme du fer en était la cause.



En hypoxie : le muscle « cède » son fer

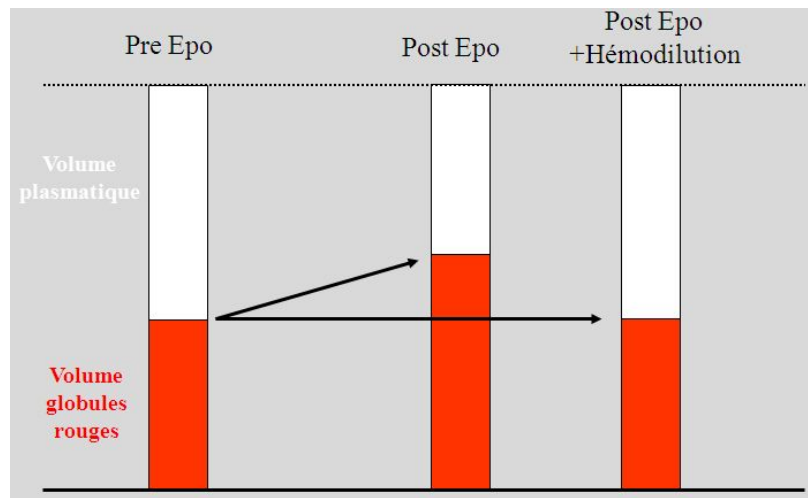
Nous avons donc mené une nouvelle étude, avec de l'EPO recombinante. Or, contre toute attente, nous n'avons observé aucun changement de myoglobine. Il n'y a donc pas d'effet périphérique de l'érythropoïétine recombinante en termes de myoglobine.



rHuEpo : myoglobine inchangée

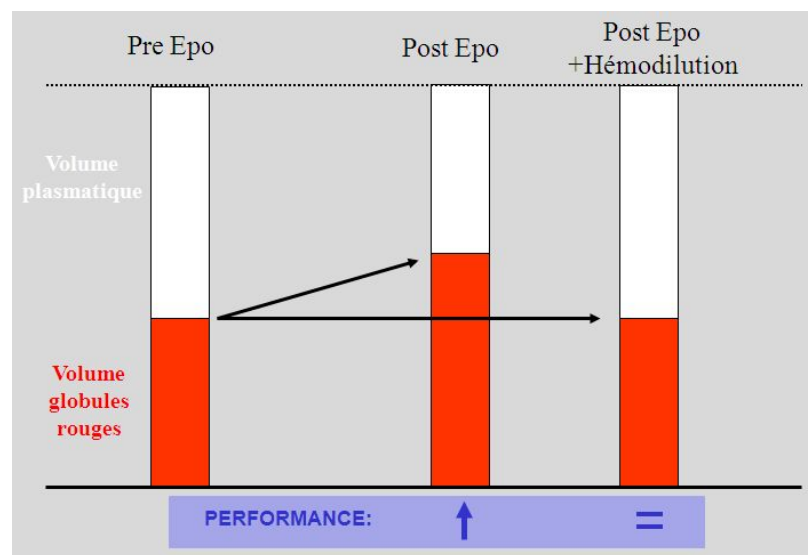
Par ailleurs, une étude a été publiée il y a un mois par une équipe danoise, qui a testé l'effet de l'EPO sur la performance dans le cerveau, en injectant d'importantes doses d'EPO à des volontaires sains (dans ce cas, l'EPO traverse la barrière sang-cerveau). Ce traitement a été court et n'a donc pas induit de fabrication de globules rouges. Cette équipe n'a cependant pas constaté d'amélioration de la perception de l'effort, ni d'amélioration de la performance.

Dans une autre étude, nous avons démontré, avec une procédure d'hémodilution normovolémique, que la performance après un traitement à l'EPO revient aux valeurs constatées avant le traitement.



Performance inchangée après procédure d'hémodilution

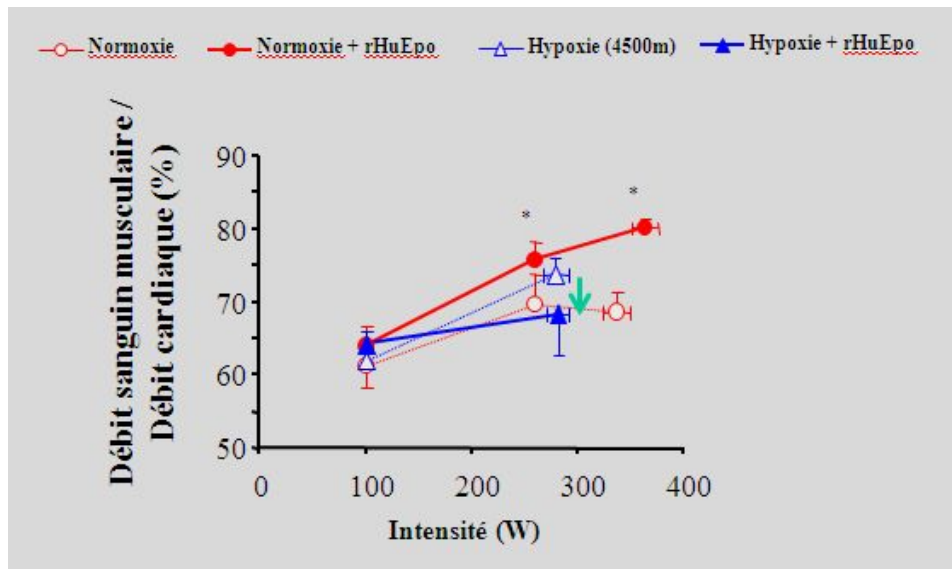
C'est donc du fait de l'augmentation des globules rouges et de la capacité de transport d'oxygène que nous observons une augmentation de la performance, beaucoup plus qu'en raison de facteurs musculaires ou autres. A ce jour, nous ne disposons pas de preuve tangible d'un effet périphérique de l'EPO sur le tissu musculaire.



L'augmentation de la performance est liée à l'augmentation des hématies

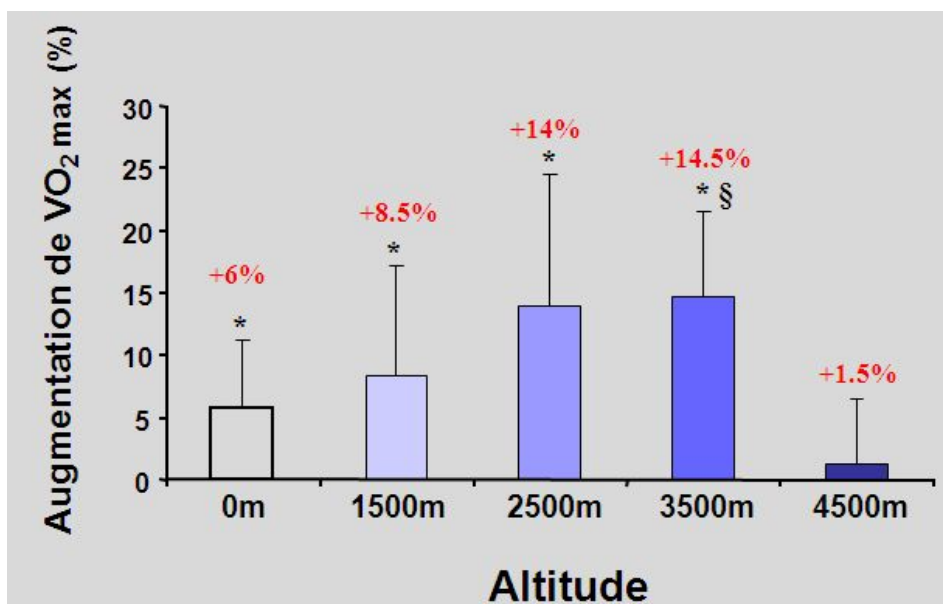
Par ailleurs, en ce qui concerne le dopage sanguin en haute altitude, une étude a montré qu'avec une transfusion autologue, la performance n'était pas améliorée. Les globules rouges sont en effet augmentés, mais ils n'ont pas d'incidence sur la performance. Avec un traitement à l'EPO recombinante, la performance n'est pas non plus améliorée. Nous citons deux mécanismes potentiels, permettant d'expliquer cette limitation de la performance : les effets cardiovasculaires et l'hypoxie de système nerveux central.

Une étude récente s'est intéressée aux origines de la fatigue en hypoxie et a montré qu'en cas d'hypoxie modérée, la fatigue musculaire périphérique est principalement concernée. Cette étude montre également qu'en cas d'hypoxie plus sévère, l'hypoxie du système nerveux central limite la performance. Ainsi, lors d'une administration d'EPO recombinante en haute altitude, un niveau d'hypoxie suffisant est atteint pour que le cerveau mette fin à l'exercice musculaire, afin de ne pas compromettre l'oxygénation de certains organes vitaux. Il s'agit d'une hypothèse qui expliquerait cette absence d'effet ergogénique de l'EPO en haute altitude.



Pas de redistribution du débit cardiaque vers les muscles actifs en hypoxie

En ce qui concerne la moyenne altitude, nous avons mesuré la VO<sub>2</sub> max avant et après un traitement de cinq semaines à l'EPO recombinante, de 1 500 mètres d'altitude jusque la haute altitude. Nous observons, non une diminution progressive de l'effet ergogénique de l'EPO entre 0 mètre d'altitude et 4 500 mètres, mais une majoration de cet effet, jusqu'à 3500m.



rHuEpo augmente la performance en moyenne altitude

Le gain de performance est donc réel après administration de l'EPO, non seulement au niveau de la mer, mais de façon encore plus marquée en moyenne altitude, ce qui a des conséquences en matière de sport. La problématique du dopage sanguin concerne donc potentiellement les sports d'endurance se déroulant en moyenne altitude. Nous constatons également que les effets périphériques de l'EPO restent à démontrer. La détection du dopage sanguin à l'EPO recombinante reste difficile, même si des tests ont déjà fait leurs preuves. Nous nous pencherons sans doute dans le futur sur des molécules induites par l'EPO, dont la demi-vie est plus longue et qui sont donc plus faciles à tracer. Nous ne connaissons pas en outre les effets indésirables de l'EPO chez le sujet sain, car ils sont peu documentés. Nous pouvons toutefois noter dans nos études une augmentation de la pression artérielle du fait de l'EPO, ainsi qu'une accumulation de fer dans les tissus musculaires après un traitement prolongé à l'EPO.

Je tiens enfin à remercier toutes les personnes qui ont rendu ce travail possible, en premier lieu mes collègues du centre de recherche sur le muscle de Copenhague, ainsi que de l'Université de Milan et Pascal Mollard, de l'Université Paris 13.

## **Questions-réponses avec l'amphithéâtre**

### **Jean-François TOUSSAINT**

Sur quels critères principaux l'idée que le cerveau assure des fonctions de redistribution se fonde-t-elle ? Comment avez-vous mesurée la redistribution périphérique ?

### **Paul ROBACH**

Nous avons mesuré le débit cardiaque jusqu'à l'effort maximal, puis le débit sanguin dans la jambe. Pour expliquer la redistribution, je supposerai que peut-être d'autres organes ont besoin de moins d'oxygène, car la capacité d'oxygène globale est augmentée.

### **François PERONNET**

Cette question de la redistribution m'intrigue. D'autres études que celles que vous avez mentionnées l'ont-elles confirmée ?

### **Paul ROBACH**

Nous l'avons mesurée avec des méthodes invasives, qui nous paraissent fiables. Je ne dispose cependant pas de davantage d'informations sur la cause de cette redistribution.

### **François PERONNET**

Nous connaissons l'effet de l'EPO sur la VO<sub>2</sub> max, mais, sur l'endurance, cet effet se mesure mal. L'augmentation de 50 % que vous évoquez me semble exagérée. Vous montrez une augmentation du taux d'endurance à 80 % autour de 30 minutes. Or un athlète tient pendant trois heures un effort à 80 %.

**Paul ROBACH**

J'en suis d'accord ; il est certain que nous pouvons discuter sur ces valeurs. De plus, les sujets que nous avons étudiés sont moyennement entraînés. Il ne s'agit en effet pas d'athlètes. Il n'est toutefois pas certain que cet effet soit minoré sur des athlètes.

**Gilbert ABOUSSOUAN**

Au sujet de l'hémodilution, la quantité de globules rouges augmentée par l'administration d'EPO reste identique. Ainsi, si le volume total a été augmenté, la masse de globules rouges reste identique. Je ne comprends pas dès lors qu'il n'y ait pas d'amélioration de la performance.

**Paul ROBACH**

Le schéma du milieu correspond à une situation après traitement à l'EPO. Nous constatons là un surplus de globules rouges. Ceux-ci sont ensuite enlevés de façon aiguë. Le marquage des globules rouges au monoxyde de carbone permet de déterminer la masse totale d'hémoglobine et le volume total des globules rouges. Ensuite, nous enlevons à chaque sujet le surplus qu'il a produit. Pour être constants en termes de volume intravasculaire, nous remplaçons ce que nous avons enlevé par un succédané de plasma. Nous effectuons ainsi une hémodilution normovolémique.

**François LHUISSIER**

Vous avez indiqué que l'injection d'EPO permettait d'augmenter l'hématocrite sans augmenter le volume sanguin total. Or des publications récentes montrent qu'avec des microdoses répétées, il était possible d'augmenter le volume sanguin total, en conservant un hématocrite stable.

Qu'en pensez-vous ? Quel effet cela pourrait-il avoir sur l'augmentation de la performance ?

**Paul ROBACH**

Dans nos études, nous avons augmenté l'hématocrite et le volume sanguin total. La diminution des doses utilisées permet de légères modifications de l'hématocrite, ce qui complique la problématique de la détection.

**François LHUISSIER**

Je n'ai dès lors pas compris la diapositive portant sur la stabilité du volume sanguin.

**Paul ROBACH**

Effectivement, le volume sanguin est stable. Toutefois, le volume de globules rouges augmente, de même que l'hématocrite.