



**HAL**  
open science

**SUIVI ENDOCRINIEN DES SPORTIFS DE HAUT  
NIVEAU : AXES  
HYPOTHALAMO-HYPOPHYSO-SURRENALIEN ET  
SOMATOTROPE ET REMODELAGE OSSEUX**

Michel Guinot

► **To cite this version:**

Michel Guinot. SUIVI ENDOCRINIEN DES SPORTIFS DE HAUT NIVEAU : AXES HYPOTHALAMO-HYPOPHYSO-SURRENALIEN ET SOMATOTROPE ET REMODELAGE OSSEUX. Physiologie [q-bio.TO]. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2005. Français. NNT : . tel-00011389

**HAL Id: tel-00011389**

**<https://theses.hal.science/tel-00011389>**

Submitted on 16 Jan 2006

**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.

**UNIVERSITE GRENOBLE I - JOSEPH FOURIER**  
**Unité de formation et de recherche en activités physiques et**  
**sportives**

**DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE GRENOBLE I**  
**EN SCIENCES ET TECHNIQUES DES ACTIVITES**  
**PHYSIQUES ET SPORTIVES**

Présenté par  
**Michel GUINOT**

**SUIVI ENDOCRININEN DES SPORTIFS DE HAUT**  
**NIVEAU :**  
**Axes hypothalamo-hypophyso-surrénalien et somatotrope**  
**et remodelage osseux**

**Thèse dirigée par : Yves LE BOUC**

Thèse soutenue le 1<sup>er</sup> décembre 2005

**Membres du Jury**

Monsieur Yves EBERHARD,	Université Joseph Fourier Grenoble I
Monsieur Yves LE BOUC,	Université Pierre et Marie Curie Paris VI
Monsieur Patrick LEVY,	Université Joseph Fourier Grenoble I
Monsieur Jacques MERCIER,	Université de Montpellier I
Monsieur Michel PUGEAT,	Université Lyon Claude Bernard
Monsieur Michel RIEU,	Université René Descartes Paris V

## Remerciements

**Je tiens à remercier avec beaucoup de gratitude les membres du jury qui ont bien voulu accepter de juger ce travail :**

**Au Pr Yves EBERHARD** dont l'engagement et la ténacité ont permis l'aboutissement d'une expérimentation sur l'effort musculaire

**Au Pr Yves LE BOUC**, pour avoir accepté de diriger ce travail. La qualité de ses contributions dans le domaine peu exploré de la physiopathologie endocrinienne liée à la pratique intensive du Sport a permis l'aboutissement de cette thèse. Je le remercie pour sa disponibilité malgré les nombreuses responsabilités qu'il doit assumer par ailleurs.

**Au Pr Patrick LEVY**, pour m'avoir permis d'exercer la médecine appliquée aux activités physiques et sportives dans son service d'Explorations Fonctionnelles Cardiorespiratoires et pour avoir favorisé la réalisation des expérimentations sur l'effort musculaire.

**Au Pr Jacques MERCIER**, rapporteur, pour son enseignement dans le domaine des explorations métaboliques et ventilatoires au cours de l'effort musculaire qui ont inspiré certaines expérimentations de ce travail.

**Au Pr Michel PUGEAT**, rapporteur, pour les connaissances que j'ai tiré de ces travaux sur la physiopathologie de l'axe gonadotrope chez le sportif. Les réflexions issues de ce travail entraîneront une collaboration ultérieure.

**Au Pr Michel RIEU**, pour m'avoir accueilli en tant que praticien dans son laboratoire de Physiopathologie de l'Exercice de l'Hôpital Cochin. La qualité de son enseignement de la médecine du Sport a été essentielle dans le cadre de ce travail. Son action (en tant que conseiller scientifique) auprès du Conseil de Prévention et de Lutte contre le Dopage a également favorisé le financement d'une partie des travaux.

**Un grand merci à toutes les personnes qui, par leur aide, m'ont permis de mener de front ce travail avec mes fonctions hospitalières et fédérales :**

**Particulièrement, au Dr Anne FAVRE-JUVIN et au Dr Armand MEGRET.** La première pour la part - plus qu'active - qu'elle a effectuée dans mon intégration dans son Unité Fonctionnelle de Biologie et de Médecine du Sport et pour son efficacité dans la coordination et la réalisation des expérimentations que nous avons réalisées dans son unité. Le second, pour son engagement qui a permis la mise en place du suivi biologiques des cyclistes élites et la confiance qu'il m'a accordée dans l'exploitation des données issues de ce suivi qui ont

constitué une part importante de cette thèse. Enfin, leur soutien amical et sans faille pendant toutes ces années m'ont été d'une grande aide.

**Au Dr Martine DUCLOS**, pour la qualité des discussions que nous avons eues à propos de la physiopathologie de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien à l'effort et qui ont beaucoup inspirées ce travail. Je la remercie pour sa contribution majeure dans l'expérimentation sur les infiltrations de glucocorticoïdes que nous avons menée. J'ai particulièrement apprécié sa disponibilité et son enthousiasme.

**Au Dr Jean-Claude SOUBERBIELLE**, pour les connaissances qu'il m'a apportées dans l'apprentissage des dosages et sa collaboration efficace dans le dosage des marqueurs du remodelage osseux.

**Au Pr Christian ROUX**, pour l'aide qu'il m'a apportée dans la constitution d'un réseau national de mesure de la densité minérale osseuse chez les cyclistes. Ainsi que pour l'interprétation des résultats.

**A Laurence PERIN et à Rémy CHRISTOL**, techniciens du laboratoire d'explorations Fonctionnelles Endocriniennes de l'Hôpital Trousseau, pour l'aide qu'ils m'ont fournie dans la mise au point et la réalisation des dosages des marqueurs de l'axe somatotrope. Je remercie également le **Dr Patrice FAURE** et l'équipe du département de biologie intégrée du CHU de Grenoble pour la réalisation de certains dosages qui concernaient l'effort musculaire.

**A Margueritte CHIONNA, Ghislaine MARNEZY, Cécile PELLAT et Marie-José SAMUEL** techniciennes et infirmière dans le Service d'Explorations Fonctionnelles Cardiorespiratoires du CHU de Grenoble au sein de l'Unité Fonctionnelle de Biologie et de Médecine du Sport pour leur participation dans la réalisation des expérimentations sur l'effort musculaire. Je remercie également le **Dr Céline FARRE, Christine GICQUEL** (infirmière) et **Jennifer REGNIER** (cadre en activité physique adaptée) du service d'endocrinologie et des maladies métaboliques du CHU de Grenoble dirigé par le Pr HALIMI pour leur aide dans le recrutement de certains volontaires et leur participation à certaines expérimentations aiguës.

**Merci aux médecins fédéraux nationaux et des équipes de France qui ont permis le recrutement et l'obtention du consentement des sportifs de l'étude sur l'axe somatotrope** : Dr Marie-Philippe ROUSSEAU-BLANCHI (Ski), Dr Alain LACOSTE et Christian PALIERNE (Aviron), Dr Didier ROUSSEAU (Judo), Dr Philippe HERMEREL (Rugby).

**Merci aux responsables des laboratoires qui ont réalisé, aliquoté et centralisé certains prélèvements:** Dr Alain DAUCH (Nemours), Dr Alain ASTIE (Toulouse) et aux membres du réseau de laboratoires de Biologie Moléculaire. A Olivier CHARRE (Laboratoires Marcel Mérieux) qui a organisé la collection et le transfert des sérums de ces laboratoires à l'hôpital Trousseau.

**Je remercie les organismes qui ont permis le financement des investigations :**

Le ministère de la Jeunesse des Sports et de la Vie Associative, la ligue du Cyclisme Professionnel français et les groupes cyclistes professionnels qui ont permis l'organisation et le financement du suivi des sportifs de haut et de certains dosages.

Le conseil de Prévention et de Lutte contre le Dopage, l'INSERM U515 et l'Université Paris VI qui ont financé l'étude sur les marqueurs de l'axe somatotrope et du remodelage osseux.

**Et bien sur je n'oublie pas les sportifs de haut niveau, notamment les Cyclistes élite, et les volontaires,** sans le consentement desquels ce travail n'aurait pu exister.

## Glossaire et abréviations

### Axe somatotrope

ALS: Acid-labil subunit  
GH : Hormone de croissance  
GHBP : *Growth hormone binding protein* (protéine liant spécifiquement le GH)  
IGF1: *Insulin-like Growth Factor 1*  
IGF2 : *Insulin-like Growth Factor 2*  
IGFBP 1 à 6 : *Insulin-like Growth Factor Binding Protein* (protéines de liaison spécifique des IGF)

### Axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HHS)

ACTH : Hormone Adréno-corticotrope  
AVP : Arginine vasopressine  
CBG : *Cortisosteroid binding globulin*  
CRF : *Corticotrophin releasing factor*  
DOC : 11 Déoxy-cortisol  
GC : Glucocorticoïde de synthèse ou naturels  
SERM: Modulateurs sélectifs des récepteurs aux œstrogènes.

### Remodelage osseux :

1-25 (OH) D3 : Di-hydro-cholécalciférol (forme active de la vitamine D)  
CTX : C télopeptide du collagène de type I  
ICTP : C télopeptide du collagène de type I  
NTX : N télopeptide du collagène de type I  
OPG : Ostéoprotégérine  
PICP et PINP : Peptides d'extension du collagène de type I C et N terminaux  
PTH : Parathormone  
RANK/RANKL: *Receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B/Ligand*  
T ALP et B ALP : Phosphatases alcalines totales et osseuses  
DMO : Densité minérale osseuse

### Dosages biologiques

HPLC : “ *High Performance Liquid Chromatography*”  
RIA : *Radio Immunoassay* ;  
IRMA : *Immunoradiometric Assay*  
ELISA : *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*  
DS : Déviation standard  
SEM : Erreur standard de la moyenne

### Physiologie de l'exercice

Effort en « résistance »: Effort musculaire dont la source principale d'énergie provient des métabolismes anaérobies. Synonyme : effort dynamique

Effort en « endurance »: Effort musculaire dont la source principale d'énergie provient des oxydations musculaires. Synonyme : effort volumétrique.

Contraction excentrique : Le muscle ou le groupe de muscles se contracte en s'allongeant  
Contraction concentrique : Le muscle ou le groupe de muscles se contracte en se raccourcissant

Contraction isométrique : La contraction musculaire n'occasionne pas de modification de la longueur du muscle

SL1 et SL2 (1) : Seuils lactiques 1 et 2<sup>1</sup>

VO<sub>2</sub> : Consommation d'oxygène

VO<sub>2</sub> max : Consommation maximale d'oxygène

---

<sup>1</sup> Par consensus, on distingue 2 seuils au cours d'une épreuve d'effort triangulaire. SL1 correspond à l'intensité pour laquelle la lactatémie devient supérieure aux valeurs de repos. SL2 correspond à l'intensité à partir de laquelle la lactatémie croît de façon linéaire avec l'effort

## Tables des matières

<b>Introduction</b>	<b>10</b>
<b>Première partie : Etat des connaissances</b>	<b>14</b>
<b>1 Chapitre I : Sport, activité physique et retentissement hormonal</b>	<b>14</b>
1.1 Effets de l'exercice musculaire	14
1.2 Effets de la pratique régulière de l'activité physique et sportive	16
<b>2 Chapitre II : Pratique intensive du sport, santé et dopage</b>	<b>19</b>
2.1 Aspects généraux du Sport de haut niveau en France	19
2.2 Les contraintes du sport de haut niveau :	20
2.3 La santé et le Sport de haut niveau	21
<b>3 Chapitre III : Physiologie de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien</b>	<b>39</b>
3.1 Régulations principales	39
3.2 Facteurs influençant la sécrétion de cortisol	40
3.3 Transport plasmatique	41
3.4 Métabolisme du cortisol	42
3.5 Effets biologiques des glucocorticoïdes	43
3.6 Exploration fonctionnelle de l'axe corticotrope	45
<b>4 Chapitre IV : Physiologie de l'axe Somatotrope</b>	<b>54</b>
4.1 Principales régulations de la sécrétion de GH	54
4.2 Mécanismes d'action de l'hormone de croissance	63
4.3 Insulin-like Growth Factors	65
4.4 Exploration de la fonction somatotrope	68
4.5 Situations pathologiques de sécrétion d'hormone de croissance	72
<b>5 Chapitre V : Physiologie du remodelage osseux</b>	<b>76</b>

5.1	Matrice osseuse et minéralisation	76
5.2	Phase cellulaire	77
5.3	Régulation du remodelage osseux	77
5.4	Marqueurs du remodelage osseux	79
5.5	Régulations endocrines et auto/paracrines du remodelage osseux	83
<b>6</b>	<b>Chapitre VI : Effets de l'activité physique sur l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien</b>	<b>89</b>
6.1	Facteurs influençant la réponse de l'axe HHS lors d'un effort musculaire	90
6.2	Effets de l'entraînement	95
<b>7</b>	<b>Chapitre VII: Effets de l'activité physique sur la régulation de l'axe somatotrope</b>	<b>98</b>
7.1	Régulation neuroendocrinienne de la sécrétion de GH	98
7.2	Facteurs influençant la concentration plasmatique de la GH lors d'un effort musculaire 102	
7.3	Facteurs influençant la concentration plasmatique de l'IGF-1 et des IGFBP lors d'un effort musculaire	108
7.4	Effet de l'entraînement sur la concentration plasmatique basale d'IGF1	115
7.5	Effet de l'entraînement sur la concentration plasmatique des IGFBP	120
<b>8</b>	<b>Chapitre VIII : Effets de l'activité physique sur la régulation du remodelage osseux</b>	<b>123</b>
8.1	Effets de l'effort musculaire	123
8.2	Facteurs influençant les variations des marqueurs du remodelage osseux durant l'effort	123
8.3	Effets de l'entraînement	124
<b>9</b>	<b>Chapitre IX : Synthèse et objectifs</b>	<b>130</b>
	<b>Deuxième partie : contributions personnelles</b>	<b>132</b>
<b>10</b>	<b>Article I : Risque d'insuffisance surrénalienne chez des cyclistes élités</b>	<b>133</b>

10.1	Communication brève.	134
10.2	Risks of adrenal insufficiency in elite Cyclists	139
<b>11</b>	<b>Article II : Effets d'une infiltration intra ou péri-articulaire de glucocorticoïdes sur l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien</b>	<b>152</b>
<b>12</b>	<b>Article III : Intérêts du dosage du cortisol plasmatique chez des cyclistes élités</b>	<b>169</b>
<b>13</b>	<b>Table V: Effects of corticosteroid treatment on plasma cortisol concentration</b>	<b>188</b>
<b>14</b>	<b>Article IV : Retentissement de la pratique du sport de haut niveau sur l'axe somatotrope et le remodelage osseux</b>	<b>190</b>
<b>15</b>	<b>Article V : Effets de la pratique du cyclisme de haut niveau sur la densité minérale osseuse l'axe somatotrope et le remodelage osseux</b>	<b>210</b>
<b>16</b>	<b>Etudes sur les effets de de l'effort musculaire sur l'axe somatotrope</b>	<b>225</b>
	<b>Troisième partie : conclusions et perspectives</b>	<b>228</b>
<b>17</b>	<b>Conclusions</b>	<b>239</b>
<b>18</b>	<b>Perspectives :</b>	<b>248</b>
	<b>Références bibliographiques</b>	<b>250</b>
	<b>Annexes</b>	<b>276</b>

# Introduction

Alors que la pratique régulière et modérée de l'activité physique ou sportive est considérée comme un facteur de protection de la santé, les effets bénéfiques de la pratique intensive du Sport sur l'organisme – notamment celle du sport de haut niveau – sont actuellement très débattus (2). En effet, si de nombreuses publications ont démontré que les adaptations cardiovasculaires, musculaires et métaboliques issues de la pratique régulière et modérée de l'activité physique étaient efficaces pour réduire l'incidence de certaines complications (par exemple diminution du syndrome métabolique chez les sédentaires, amélioration du profil glycémique au cours du diabète non-insulinodépendant) ou pour améliorer la qualité de vie de certaines maladies chroniques (par exemple broncho-pneumopathie obstructive chronique), les pratiques abusives dérivées de la pratique du Sport de haut niveau remettent en question le dogme « sport = santé » pour cette catégorie de pratiquants bien qu'il existe peu de publications médicales pour l'étayer.

Il existe peu de données épidémiologiques traitant des effets à moyens et long terme de la pratique intensive du Sport. A notre connaissance, seuls Sarna *et al.* (3) ont comparé l'incidence de pathologies chez des sportifs élites finlandais ayant fait de la compétition entre 1930 et 1965 à celle de sujets non sportifs appariés pour l'âge. Ils ont constaté que ces anciens sportifs développaient moins de pathologie coronarienne et pas de recrudescence de l'incidence de maladies chroniques. Seule l'incidence des lésions ostéoarticulaires doublait chez les sportifs.

Cependant, cette étude intéressait des sportifs dont la pratique se situait avant la médiatisation extrême du Sport de haut niveau du début des années 1980 qui s'est accompagnée de l'intensification du nombre des compétitions et des charges d'entraînement. Ces « cadences infernales », qui écourtent les temps de récupération et sollicitent ainsi des organismes en état de fatigue, sont des facteurs qui, en plus des exigences de performance, peuvent favoriser l'épuisement des sujets et le recours à des aides pharmacologiques. Dès lors, il est logique de spéculer que la pratique intensive du sport peut altérer la santé physique et psychique de certains individus.

Quelques ouvrages récents analysent les liens étroits entre la pratique sportive intensive et les conduites à risque (4), certains philosophes n'hésitant pas à considérer le Sport de haut niveau comme une « aliénation radicale de l'homme » (5). Cette métaphore prend forme chez certains sportifs qui développent une véritable dépendance à la pratique sportive (6), à l'égal d'autres « toxicomanies sans drogues » auxquelles elle peut être associée (7).

La pratique sportive de haut niveau concerne surtout des adolescents et/ou des adultes jeunes. Ils représentent également une population particulièrement exposée à la consommation de

substances psycho-actives ou aux troubles des conduites alimentaires (TCA). En effet, Choquet *et al.* (2) ont mis en évidence que l'incidence de certaines conduites à risques (consommation de substances psycho-actives, violence ..) augmentait avec celle de la durée de la pratique sportive hebdomadaire. En plus, un lien étroit entre toxicomanie, pratique intensive du Sport et dopage est proposé par Lowenstein *et al.* (8) qui ont constaté qu'un pourcentage élevé d'anciens sportifs de haut niveau fréquentaient les centres de substitution par la méthadone. Enfin, les chroniques nécrologiques tenues à propos d'anciens champions qui paraissent régulièrement dans la presse sportive suggèrent également la responsabilité du dopage dans ces décès prématurés, qu'ils soient directement attribués à l'utilisation supposée de produits dopants hormonaux (par exemple celui de Florence Griffith-Joyner en 1998, championne olympique d'athlétisme du 100 et 200 mètres à Séoul en 1988 dont la transformation physique et les performances avaient défrayé la chronique), ou indirectement en association avec l'usage de stupéfiants (comme pour celui plus récent de Marco Pantani, ancien vainqueur du Tour de France cycliste 1997).

Une augmentation de la fréquence de TCA restrictifs a été mise en évidence, notamment dans les sports d'endurance, à catégorie de poids ou à prédominance esthétique (9, 10). Les déficits caloriques engendrés par ces conduites alimentaires restrictives, d'autant plus qu'ils sont associés à une dépendance à la pratique sportive, prédisposent à un état de surentraînement (11) et s'accompagnent notamment de perturbations psychologiques et hormonales (12). Ainsi, le développement de cet hypogonadisme, bien décrit chez la sportive (13), mais également chez le sportif masculin (14), provoque une diminution précoce de la densité minérale osseuse dont le pronostic à long terme est préoccupant.

L'ensemble de ces arguments a incité le législateur<sup>2</sup> à considérer la pratique du sport de haut niveau comme un problème de santé publique. En effet les sportifs de haut niveau (ainsi que les sportifs, plus jeunes, des filières d'accès au haut niveau<sup>3</sup>) nécessitent une surveillance médicale particulière dont les modalités ont été fixées par un arrêté interministériel<sup>4</sup>. Un décret d'application confie cette mission de service public aux fédérations sportives et précise que les objectifs de ce suivi médical sont de prévenir, de dépister et de réduire les risques liés

<sup>2</sup> Loi n° 99-223 relative à la protection de la santé du sportif et à la lutte contre le dopage codifiée dans le code de santé publique (livret VI, article L 3611 et suivants)

<sup>3</sup> Décret n°2004-120 du 6 février 2004 relatif aux examens médicaux obligatoires pour les licenciés inscrits sur la liste des sportifs de haut niveau ou dans les filières d'accès au sport de haut niveau ou pour les candidats à cette inscription

<sup>4</sup> Arrêté du 28 avril 2000 abrogé et remplacé par celui du 11 février 2004 fixant la nature et la périodicité des examens prévus aux articles L 3621-2 et R 3621-3 du code de santé publique

à la pratique intensive du Sport (dopage, surentraînement et troubles des conduites alimentaires, etc....) Outre le dépistage d'une maladie intercurrente, la mise en place de ce suivi médical réglementaire doit permettre de mieux apprécier le retentissement de la pratique du sport de haut niveau sur l'organisme (systèmes cardio-vasculaire ou pulmonaire) et de dépister les conséquences du dopage (système hématopoïétique, métabolisme du fer, métabolisme osseux, axes gonadotrope, somatotrope ou HHS) ou du surentraînement. Lors d'études antérieures, nous avons démontré l'intérêt de ce suivi au sein de la population cycliste élite en montrant les effets de l'utilisation abusive du fer (15)<sup>5</sup> et le retentissement de la pratique intensive du cyclisme sur les populations leucocytaires (16)<sup>6</sup>.

Dans ce travail, nous proposons d'étudier le retentissement de la pratique intensive du sport sur la fonction corticotrope, somatotrope et le remodelage osseux à partir de certaines données du suivi médical de quelques fédérations sportives. En effet, si les conséquences du détournement d'usage de certains médicaments hormonaux (en particulier des stéroïdes anabolisants) ou de la pratique intensive du sport sur l'axe gonadotrope sont bien connues, celles sur les axes somatotrope et HHS le sont moins. La fonction basale de ces axes endocriniens peut être affectée non seulement par l'usage de produits dopants (par exemple hormone de croissance ou GC de synthèse), mais également lors des efforts musculaires.

Etant donné qu'ils sont également impliqués dans le contrôle du remodelage osseux, il nous a semblé intéressant, en complément, d'analyser les effets de la pratique intensive du Sport sur le remodelage osseux, d'autant plus que les activités sportives non soumises aux effets de la gravité terrestre n'entraînent pas d'effet trophiques sur le squelette (17).

---

<sup>5</sup> Voir détails de l'article en annexe 1

<sup>6</sup> Voir détails de l'article en annexe 2

## Première partie : Etat des connaissances

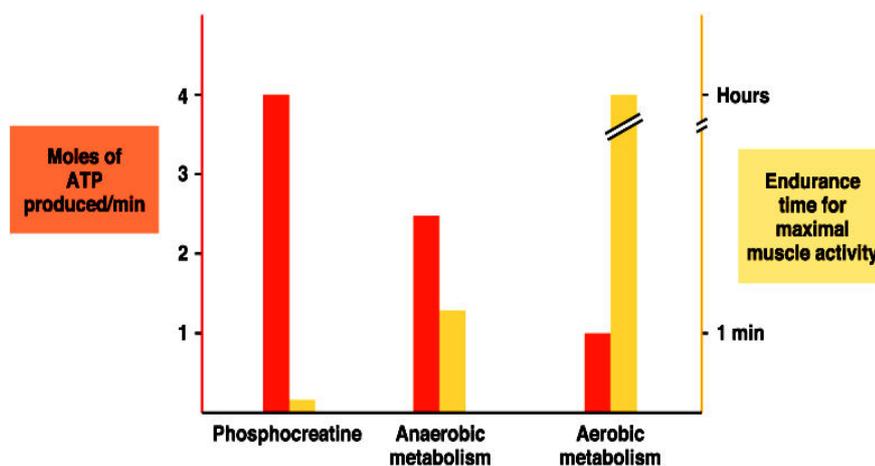
## 1 Chapitre I : Sport, activité physique et retentissement hormonal

### 1.1 Effets de l'exercice musculaire

Les contraintes imposées par la réalisation d'un effort musculaire, vont entraîner, comme lors de tout stress, des modifications du fonctionnement des systèmes respiratoire, cardiaque, vasculaire, neuromusculaire et neuroendocrinien.

D'un point de vue bioénergétique, la faculté pour un individu de nager, courir, sauter, pédaler, etc..., dépend essentiellement de ses capacités à extraire l'énergie apportée par les nutriments et à la transférer aux éléments contractiles du muscle squelettique (18). Ainsi, la transformation de l'énergie chimique alimentaire en énergie mécanique se fait par l'intermédiaire de l'hydrolyse intracellulaire de la molécule d'adénosine tri phosphate (ATP), possédant des liaisons phosphore riches en énergie. Cette réaction chimique est nécessaire au cours de tout processus cellulaire nécessitant de l'énergie. Etant donné que les stocks cellulaires en ATP sont insuffisants pour prolonger un effort musculaire intense au delà de quelques secondes (18) et que l'ATP ne peut être fournie par voie sanguine, celle-ci doit donc être renouvelée durant l'effort.

Figure N°1 : Principaux mécanismes énergétiques assurant la production d'ATP musculaire



La resynthèse de l'ATP s'effectue dans le cytoplasme en absence d'oxygène (métabolisme anaérobie) par la dégradation de la créatine phosphate sous l'influence de la phosphoryl-créatine kinase ou lors de la dégradation du glucose en acide lactique (figure N°1). Ces processus de renouvellement rapide de l'ATP permettent à l'organisme de réaliser des efforts musculaires intenses mais limités dans le temps (quelques secondes pour la créatine phosphate et 30 secondes environ pour la glycolyse).

Pour les efforts de durées supérieures, la présence d'oxygène (métabolisme aérobie) est indispensable et permet, grâce au couplage de la chaîne de transport des électrons et de la phosphorylation oxydative mitochondriale, la production d'un grand nombre de molécules d'ATP. Le glucose et les lipides sont les seuls substrats énergétiques oxydés dans les mitochondries. Au cours de l'effort musculaire, ils proviennent pour 70% environ de la dégradation des stocks musculaires de glucose (glycogénolyse) ou de lipides (triglycérides) et pour 30% du glucose plasmatique produit par la glycogénolyse et/ou la néoglucogenèse hépatique. Ce dernier mécanisme permet la synthèse de glucose à partir d'acides aminés (dégradation des protéines), de glycérol (dégradation des acides gras) ou de l'acide lactique (issu de la glycolyse musculaire).

Ainsi, l'augmentation de l'utilisation des substrats énergétiques au cours de l'activité physique se traduit, sur le plan métabolique, par un accroissement de la consommation d'oxygène ( $VO_2$ ) et de la concentration plasmatique en acide lactique qui est proportionnel à l'intensité de l'effort (19). L'augmentation de la ventilation (20), du débit cardiaque et la mobilisation des réserves glucidiques et lipidiques sont donc nécessaires pour augmenter l'apport en  $O_2$  et fournir les substrats énergétiques au muscle.

Les réponses rapides nécessitées par la demande métabolique sont possibles grâce aux modifications des sécrétions neuroendocriniennes dont les mécanismes intimes ne sont pas clairement établis (21).

L'intensité de la réponse hormonale va dépendre des caractéristiques de l'effort (type, intensité, durée) et des caractéristiques individuelles (niveau d'entraînement, âge, sexe, composition corporelle, statut nutritionnel, thérapeutiques utilisées).

D'une manière générale, ce mode de réponse est stéréotypé comme dans toute réaction au stress (21). Dans un premier temps, quelques secondes après le début de l'effort, l'activation du système orthosympathique va permettre la libération des catécholamines qui vont augmenter le débit cardiaque (effets chronotrope et inotrope positifs), la glycolyse et la lipolyse. Il existe également une augmentation du Corticotropin Releasing Factor (CRF) - et d'arginine vasopressine - dans la circulation portale hypothalamo-pituitaire qui vont provoquer la libération d'ACTH et inhiber celle des gonadolibérines (22). Il existe également une augmentation la concentration plasmatique d'autres hormones antéhypophysaires (GH, prolactine) et de la sécrétion pancréatique de glucagon.

Si l'effort se prolonge, la variation des concentrations plasmatiques des hormones antéhypophysaires va entraîner dans un délai de quelques minutes à plusieurs dizaine de

minutes, la sécrétion surrénalienne de GC et la diminution de la production des stéroïdes sexuels (pour des efforts au delà de 30 minutes (23).

Les variations des concentrations plasmatiques de ces hormones stéroïdiennes ne produiront leurs effets biologiques qu'après un délai de plusieurs dizaine de minutes à plusieurs heures - délai nécessaire aux modifications transcriptionnelles - bien qu'il existe également des interactions protéine-protéine qui permettent des effets plus rapides (21).

## **1.2 Effets de la pratique régulière de l'activité physique et sportive**

L'activité physique peut être définie comme : « toute forme de mouvement corporel produit par la contraction des muscles squelettiques qui entraîne une augmentation de la dépense énergétique supérieure au métabolisme de base » (24). Ainsi, l'augmentation globale de la dépense énergétique va dépendre de la façon dont se déroulent les activités de la vie quotidienne (notamment les déplacements), l'activité professionnelle et les loisirs (importance de la pratique sportive). Or, le développement des modes de transports motorisés ainsi que celui des activités de loisirs (télévision, jeux vidéo, etc....) sont des facteurs qui favorisent la sédentarité et la surcharge pondérale, non seulement chez l'adulte mais également chez l'enfant et l'adolescent. Ce phénomène qui était initialement localisé dans les pays industrialisés, s'étend maintenant à l'ensemble de la planète, réalisant ainsi une véritable « pandémie » et constitue un problème majeur de santé publique (25). En effet, la sédentarité et la surcharge pondérale sont deux facteurs de comorbidité favorisant l'apparition d'un « syndrome métabolique » qui associe hypertension artérielle, insulino-résistance et troubles du métabolisme lipidique (26). Ces altérations cardiovasculaires et métaboliques sont responsables d'une mortalité précoce en raison du développement de maladies coronariennes, d'accidents vasculaires cérébraux et de certains cancers (27). De façon additionnelle, les sujets qui sont porteurs de ces pathologies, sont plus fréquemment exposés aux complications mécaniques de l'obésité (arthrose) et à des difficultés d'insertion socio-économiques qui sont eux-mêmes des facteurs contribuant à la réduction de la dépense énergétique (28).

Il a été démontré dans de nombreuses études que l'augmentation de la dépense énergétique par la pratique régulière d'une activité physique diminuait l'incidence des complications liées à la sédentarité et au surpoids (voir revue in (29). Récemment, l'American College of Sports Medicine a recommandé d'associer aux mesures diététiques, la pratique régulière de l'activité physique régulière pour diminuer les effets du surpoids (30). Bien que la relation bénéfiques/dose d'activité physique et que les recommandations en terme d'intensité, de durée et de fréquence soit encore débattues (28), les individus qui pratiquent régulièrement une

activité physique ont une diminution de la mortalité globale, de l'incidence de l'apparition de maladies cardiovasculaires et de cancers (colon, sein, prostate). Chez les patients atteints de maladies chroniques, la pratique régulière de l'activité physique améliore la qualité de vie et diminue l'anxiété et la dépression.

Ces bénéfices induits par l'entraînement (ou le réentraînement) sont obtenus grâce à l'amélioration des capacités cardiorespiratoires et musculaires, de la composition corporelle et du métabolisme lipidique et glucidique. En effet, chez le sujet sédentaire – en l'absence de pathologies respiratoire, cardiaque, hématologique ou musculaire sévères, la pratique régulière d'une activité physique en endurance améliore la tolérance à l'effort se traduit par un accroissement de la  $VO_2$  max dont l'importance est fortement influencée par les caractéristiques individuelles (31). Cette augmentation de la puissance aérobie traduit l'augmentation de la capacité de transport, de diffusion et de l'extraction de l'oxygène par le muscle, à savoir :

- (i) L'augmentation du débit cardiaque maximal par amélioration de la fonction diastolique du ventricule gauche (32),
- (ii) L'amélioration de la perfusion musculaire par amélioration de la compliance artérielle (33) et de la fonction endothéliale (34),
- (iii) L'amélioration de la diffusion de l'oxygène par l'augmentation du nombre de capillaires par fibre musculaire (35),
- (iv) L'augmentation du potentiel oxydatif musculaire avec une densité mitochondriale plus élevée (36).

De plus, l'activité physique en endurance favorise le contrôle du poids (37) et la modification de la composition corporelle en diminuant le pourcentage de masse grasse sous cutanée et surtout viscérale (38). Celle-ci explique pour partie l'amélioration du profil lipidique et de la sensibilité à l'insuline chez le sujet sain (39) comme chez le sujet insulino-résistant (38).

L'ensemble des mécanismes d'action par lesquels l'activité physique permet ces adaptations n'est pas clairement élucidé et s'effectue à plusieurs niveaux. Ainsi, il existe vraisemblablement une modification de la production locale (muscles, os, tissu adipeux, vaisseaux, etc.) de facteurs de croissance et/ou de cytokines qui agissent de manière auto et/ou paracrine mais qui modifient également le fonctionnement des axes endocriniens. En plus, l'entraînement module les réponses catécholaminergiques ainsi que celle des axes corticotrope et somatotrope pour un effort musculaire d'une puissance donnée (40-43). Il existe également des modifications de l'affinité des hormones pour leur récepteur et probablement pour leurs protéines de transport spécifiques (44-46). Par exemple,

l'amélioration de l'insulinosensibilité (39) provoquée par une amélioration de la captation musculaire du glucose et la modification de la composition corporelle (modifications de la sécrétion de certaines adipokines) augmente la concentration plasmatique de certaines protéines porteuses spécifiques (IGFBP1, IGFBP3 ?, SHBG) - mécanisme qui, en diminuant la fraction libres des hormones anabolisantes pourrait favoriser la diminution de certains cancers (47) - et améliore la fonction endothéliale puisque l'insuline y joue un rôle important [revue in (48)]. Par contre, la modification des concentrations plasmatiques basales de certaines hormones (cortisol, GH, IGF1, testostérone) induite par la pratique de l'activité physique reste très discuté (49-51).

## 2 *Chapitre II : Pratique intensive du sport, santé et dopage*

### 2.1 **Aspects généraux du Sport de haut niveau en France**

Les dispositions législatives françaises<sup>7</sup> fixant le cadre du " service public du sport ", sont effectuées pour partie par le mouvement sportif, via les fédérations sportives agréées par l'Etat. Les fédérations qui, en plus, ont reçu une délégation des pouvoirs de l'Etat, exécutent cette mission de service public. Actuellement, environ 14 millions de français sont licenciés au sein de ces structures associatives qui organisent les compétitions sportives, définissent les règles techniques et administratives propres à leur(s) discipline(s) et fixent librement les règles relatives à l'organisation des compétitions, à l'exception des domaines relevant de l'ordre public (pouvoir disciplinaire, dopage, sécurité, règlement médical)(52).

Le Sport de haut niveau français est représenté dans 55 fédérations sportives (29 fédérations unisports olympiques, 25 fédérations unisports non olympiques, 1 fédération multisports olympique) qui sont responsables de 156 disciplines de haut niveau (52). Il concerne environ 17000 sportifs - soit 0,12 % de l'ensemble des licenciés - dont les listes sont arrêtées chaque année par le ministre de la Jeunesse, des Sports et de la Vie Associative sur proposition de la commission nationale du Sport de haut niveau (CNSHN)<sup>8</sup>. Ces listes nominatives comprennent 6000 sportifs de haut niveau (SHN) - répartis en catégories seniors (dont environ 1000 élites<sup>9</sup>), jeunes et athlètes en reconversion – et 11000 sportifs répartis dans les filières d'accès au sport de haut niveau<sup>10</sup>. Ces filières d'accès concernent des adolescents (âgés de plus de 12 ans) et correspondent à des structures d'entraînement labellisées par le ministère de la Jeunesse, des Sports et de la Vie Associative, également appelées pôles, qui négocient le plus souvent avec les établissements scolaires des aménagements d'emploi du temps. Elles constituent le « réservoir du Sport de haut niveau », sachant que seulement 5% de ces jeunes sportifs deviendront SHN.

La qualité de SHN ne repose pas sur des critères de pratique intensive du Sport mais surtout sur des critères « d'excellence sportive ». En effet, le sportif doit pratiquer une discipline dont le caractère de haut niveau est reconnu par la CNSHN et doit avoir participé à des compétitions de référence (championnat d'Europe, du Monde, Jeux Olympiques). Cette

<sup>7</sup> loi n° 84-610 du 16 juillet 1984 modifiée relative à l'organisation et à la promotion des activités physiques et sportives

<sup>8</sup> Décret n°2002-707 du 29 avril 2002 relatif au sport de haut niveau

<sup>9</sup> La catégorie élite est constituée des sportifs qui représentent la France dans les grandes compétitions internationales seniors (jeux olympiques, championnats internationaux)

<sup>10</sup> Décret n° 2002-1010 du 18 juillet 2002 relatif aux filières d'accès au sport de haut niveau

« définition » exclut ceux qui pratiquent également le sport de manière intensive<sup>11</sup>, bien qu'ils soient exposés aux mêmes risques (2), à savoir les sportifs professionnels (excepté ceux qui obtiennent des sélections dans les équipes nationales), les individus dont la profession exige une activité physique intense (moniteurs de Sport, pompiers, certains militaires, métiers de sécurité ...) et l'ensemble des sportifs licenciés (ou non-licenciés) qui ne satisfont pas aux critères du haut niveau.

## 2.2 Les contraintes du sport de haut niveau :

L'obligation de performance qui est l'essence même du sport de haut niveau, engendre des contraintes physiques et psychologiques auxquelles les sportifs vont devoir s'adapter même si, a priori, elles sollicitent des individus ayant des prédispositions athlétiques, morphologiques ou psychologiques particulières.

Ces contraintes sont hétérogènes sur le plan physique et vont entraîner des sollicitations cardio-respiratoires, musculaires, squelettiques, hormonales et métaboliques spécifiques. D'un point de vue bioénergétique et cardiorespiratoire, ces différences sont bien individualisées lorsqu'on mesure de la VO<sub>2</sub> max des SHN (53). Cela permet d'apprécier l'importance de la qualité des capacités de transport et d'utilisation de l'oxygène des sportifs, mais également d'évaluer les contraintes métaboliques et cardiorespiratoires auxquelles sont soumis ces sportifs lors des entraînements et des compétitions :

- (i) Les sportifs d'endurance ont une VO<sub>2</sub> max élevée ( $\geq 70$  ml/kg/mn chez le sportif masculin, 60 ml/kg/mn chez la sportive). L'utilisation du métabolisme aérobie pendant l'effort est quasi exclusive et entraîne une dépense énergétique élevée en raison des efforts intenses et prolongés (demi-fond long, course hors stade, cyclisme sur route, ski de fond .....),
- (ii) Les sportifs dits de résistance où la source principale d'énergie durant l'effort provient de l'utilisation du métabolisme anaérobie. Ces sportifs ont des VO<sub>2</sub> max d'environ 50 ml/kg/mn (pour les hommes) et des qualités prédominantes de force, de vitesse ou de détente. Ces disciplines entraînent une dépense énergétique modérée et nécessitent le développement de la masse musculaire et l'apprentissage du geste sportif,
- (iii) Les disciplines mixtes concernent des sportifs qui ont une VO<sub>2</sub> max intermédiaire (55 à 65 ml/kg/mn). Ce sont des sports collectifs ou individuels, exigeant des efforts continus ou intermittents qui utilisent les métabolismes aérobie et anaérobie,

---

<sup>11</sup> On peut retenir comme critère de pratique intensive du Sport (même s'il est discutable), une durée hebdomadaire supérieure à 8 heures (2. Choquet M, Bourdessol H, Arvers P, Guilbert P, De Péretti C 1999 Jeunes, sports et conduites à risques. In: Ministère de la Jeunesse dSedlva (ed). Ministère de la Jeunesse, des Sports et de la Vie Associative, Paris, p 153)

(iv) Les disciplines d'adresse ou de précision sont à part car elles sollicitent peu l'organisme sur le plan énergétique.

Si les contraintes physiques appliquées aux sportifs de haut niveau sont éminemment variables, les contraintes psychologiques apparaissent plus homogènes. En effet, non seulement l'obligation de résultat - que le sportif s'impose et qui est relayée par l'entourage (entraîneurs, dirigeants, sponsors, famille ...) mais également la succession des compétitions et des entraînements génèrent un stress important qui peut être majoré par les événements personnels (54).

Ainsi, la multiplicité de ces contraintes nécessite des réponses adaptatives (55) qui, chez certains sportifs vulnérables, pourront s'exprimer par des conduites à risque et menacer leur santé physique et psychique.

## 2.3 La santé et le Sport de haut niveau

### 2.3.1 Les effets délétères de la pratique intensive du Sport

Bien que les relations dose /réponse induite par l'activité physique ne soient pas clairement établies, la plupart des modèles ou des publications décrivent que les risques associés à la pratique intensive du sport évoluent selon une courbe en « J » (2, 56). Il en résulte que le ratio bénéfice/risque pour la santé va diminuer avec l'intensité de la pratique sportive, comme cela est modélisé dans la figure n°2.

Figure N°2 : relations bénéfices risques en fonction de l'intensité de la pratique de l'activité physique d'après (57)

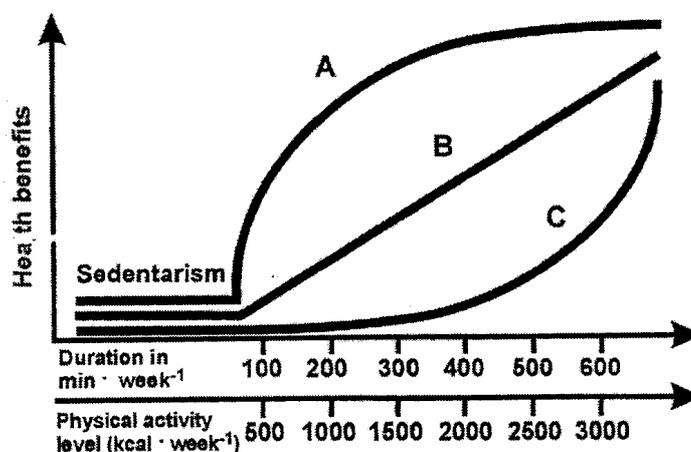


FIGURE 2—Schematic illustration depicting the relationships between physical activity level defined in minutes of participation per week or energy expended. See text for explanation.

Ce modèle prévoit que les bénéfices pour la santé (A) augmentent de manière asymptotique avec la pratique de l'activité physique alors que les risques d'altération (C) augmentent de manière exponentielle. Lorsque l'intensité de la pratique est trop élevée le bénéfice net (A-C) devient faible voire nul.

Les sollicitations intenses et répétées de l'organisme, d'autant plus qu'elles sont associées à des temps de récupération réduits, vont augmenter les risques (i) de traumatismes dont le siège et la gravité dépendent de la discipline pratiquée, (ii) d'infections notamment des voies aériennes supérieures (56), (iii) d'asthme particulièrement dans les disciplines d'endurance (58), (iv) de perturbations de la fonction gonadotrope dans les deux sexes (13, 14), (v) de mort subite essentiellement chez les sportifs ayant une cardiopathie congénitale sous-jacente méconnue (59), (vi) de retard de croissance chez l'enfant (60, 61) dont l'impact final reste très débattu (vii) de surentraînement (12) dont les caractéristiques seront étudiées plus bas. Certaines de ces complications pourront être favorisées ou provoquées par l'utilisation concomitante de médicaments qu'ils soient prescrits ou non (Cf. infra § 2.3.4 sur le dopage) et les troubles du comportement alimentaires (Cf. infra § 2.3.3 sur TCA).

Les effets à plus long terme de la pratique intensive du sport ont été peu étudiés. En dehors des séquelles ostéoarticulaires ou neurologiques qui peuvent altérer la qualité de vie, il semble difficile d'établir une relation de causalité entre la pratique intensive du Sport et la santé 20 ou 30 ans après l'arrêt de la carrière sportive. En effet, celle-ci va dépendre de l'hygiène de vie que l'individu a mené durant cette période (62).

Une augmentation de l'espérance de vie par rapport à celle de la population générale a été mise en évidence au sein de 2 cohortes finlandaises de sportifs de haut niveau (3, 63) et une étude polonaise (64). Cette augmentation était supérieure chez les anciens sportifs de haut niveau, surtout chez ceux qui avaient pratiqué une discipline d'endurance (3). Cet accroissement de la longévité était attribué à leur meilleure hygiène de vie (activité physique supérieure et tabagisme moindre) et se traduisait par la diminution statistique du nombre des décès par cancer (du poumon) et par accident cardiovasculaire au sein de cette population. Mais les prédispositions génétiques de ces sportifs d'endurance auraient pu également contribuer à la diminution des facteurs de risques cardio-vasculaires (65). En effet, ces sportifs qui ont une  $VO_2$  max élevée et un plus grand nombre de fibres musculaires lentes à forte capacité oxydante (66), bénéficiaient également d'un meilleur profil lipidique et d'une meilleure sensibilité à l'insuline (67, 68).

Inversement, certains auteurs (69) ont constaté une augmentation des décès d'un facteur 4,6 (essentiellement d'origine coronarienne et par suicide) chez 62 haltérophiles élites suspectés

d'avoir utilisé des stéroïdes anabolisants. En plus, certaines publications scientifiques (ainsi que les rubriques nécrologiques de la presse sportive) suggèrent qu'il existe des liens étroits entre le dopage et le risque de décès prématurés pour certains athlètes, non seulement par accidents cardiovasculaires ou par cancer, mais également par mort violente, particulièrement chez les utilisateurs de stéroïdes anabolisants (69, 70). En effet, les stéroïdes anabolisants, comme la plupart des dérivés hormonaux, exercent des effets psycho-actifs qui peuvent se manifester par des syndromes de manque (71) allant jusqu'à des dépressions sévères provoquant des suicides ou de manifestations psychotiques.

**En résumé**, si la pratique intensive de Sport semble augmenter le risque d'altération de la santé à court terme surtout si elle est associée à d'autres pratiques à risque, il est difficile d'attribuer les effets d'une pratique limitée dans le temps (quelques années) sur la santé ultérieure. Il existe vraisemblablement, en raison des conduites à risque associées (dopage, consommation de substances psycho-actives, troubles des conduites alimentaires), une fraction de SHN avec un risque élevé de comorbidité psychiatrique, cancéreuse ou cardiovasculaire. Cependant, les connaissances actuelles ne permettent pas d'affirmer qu'il est supérieur à celui de la population générale. L'évaluation et le suivi de cohortes de SHN après l'arrêt de leur carrière sportive, apparaît donc indispensable pour répondre à cette question.

### **2.3.2 Sport de haut niveau et pratiques à risques**

La pratique du Sport de haut niveau - lorsqu'elle est analysée selon l'angle de la recherche absolue de la performance, véritable « quête du dépassement de soi » - peut inciter l'individu à la démesure, parfois au détriment de sa santé (5). Pour dépasser les limites qu'ils se sont fixées, certains sportifs vont en effet continuer de solliciter leur organisme malgré l'apparition de blessures (musculaires, tendineuses ou fractures de fatigue), d'infections, de fatigue extrême allant jusqu'à l'épuisement (54). D'autres peuvent utiliser des produits dopants ou des stratégies de restriction alimentaire. Par analogie avec la classification des troubles psychopathologiques liés à l'usage de produits toxiques (72), ces comportements peuvent être considérés a minima comme une « pratique sportive nocive », voire, dans certains cas, comme une « dépendance à l'activité sportive » (73, 74), comme cela a été décrit chez les coureurs de longue distance (11, 75), les culturistes (76) ou les danseuses de ballet (77).

Il semble donc exister un lien entre la pratique sportive intensive, la dépendance à l'activité sportive et les autres conduites à risque qui s'observent particulièrement à l'adolescence et chez l'adulte jeune (4). Ainsi, Choquet et al (2) ont mis en évidence que l'incidence de

certaines conduites à risques (consommation de substances psycho-actives, violence ..) augmentait avec la durée de la pratique sportive hebdomadaire. Lowenstein et al. (8) ont également constaté que 10,8% des consultants des centres de substitution par la méthadone étaient d'anciens sportifs de haut niveau, certains ayant reconnu s'être dopé durant leur carrière.

Ainsi, les TCA et le dopage seraient des pratiques à risques spécifiques de la pratique sportive. Il nous a paru intéressant de les développer car elles peuvent modifier le fonctionnement des axes hormonaux, notamment des axes corticotrope et somatotropes.

### **2.3.3 Troubles du comportement alimentaire et pratique sportive intensive**

***Incidence et caractéristiques cliniques*** : Les principales formes cliniques des TCA sont l'anorexie mentale, la boulimie, et des formes mixtes (72) dont le pronostic psychiatrique est sévère. Elles concernent 1 à 2 % de la population générale, essentiellement les adolescents et les adultes jeunes puisque c'est à cet âge que ces troubles s'installent avec une surreprésentation féminine (72). L'hyperactivité physique qui est mise en évidence de manière quasi-constante chez ces sujets (78) s'inscrit notamment dans une stratégie cognitive de maîtrise du poids. Les TCA sont également plus fréquents chez les SHN masculins et féminins (9, 10). Ces troubles, plutôt restrictifs, sont surtout augmentés chez les pratiquants des disciplines où la minceur et/ou la légèreté sont associés à la performance où conditionnent la participation aux compétitions (9, 10, 79). Les sportifs pratiquant des disciplines jugées où l'esthétique est importante (danse, gymnastique, patinage artistique ...), des sports à catégorie de poids (judo, lutte, boxe), d'endurance (course de fond, cyclisme sur route ou mountain-bike) sont particulièrement exposés. Cependant, bien que le terme « d'anorexia athletica » soit employé par certains auteurs (9), la plupart des troubles présentés par les SHN sont infra-cliniques et les cas avérés d'anorexie ou de boulimie ne semblent pas supérieurs à ceux de la population générale (9, 10).

#### ***Conséquences psychologiques et endocriniennes***

En plus de la possibilité du développement d'anorexies avérées (4), la double contrainte - métabolique créée par le déficit calorique (80) et psychologique liée à la nécessité de maîtrise du statut pondéral - va s'ajouter à celles des efforts musculaires et de la compétition. Le cumul de ces contraintes constitue un facteur de risque important de surentraînement (12). Ce syndrome associe une diminution des performances, des troubles de l'humeur, du comportement et des perturbations hypothalamo-hypophysaires (12, 81) qui seront abordées plus tard.

Bien que ces formes soient infra-cliniques, la restriction calorique qui en résulte semble déterminante dans l'apparition de perturbations du système endocrinien (80, 82) dont la présentation la plus connue est la « triade de l'athlète féminine » qui associe aménorrhée, TCA et ostéopénie (83). Ce dysfonctionnement de l'axe gonadotrope d'origine hypothalamo-hypophysaire – qui a été également mis en évidence chez le sportif (14) – se traduit par une diminution de la pulsativité de la gonadotrophine releasing hormone (80, 84).

Comme les patientes ayant une anorexie mentale (85), les sportives aménorrhéiques (86) ou les femmes mises en restriction calorique (80) ont des modifications hormonales qui consistent non seulement en une diminution des concentrations plasmatiques de LH et FSH et d'œstradiol mais également en une augmentation de la sécrétion basale de GH et de cortisol, une diminution de la concentration plasmatique d'IGF1, de leptine et une augmentation de celle d'IGFBP1 (80). Elles ont également des modifications des marqueurs sériques du remodelage osseux (85). Loucks *et al.* (80) ont montré que ces modifications hormonales étaient proportionnelles au déficit calorique imposé et indépendantes de l'effort musculaire.

Ainsi, selon l'âge de début de l'entraînement intensif, certains de ces SHN vont avoir un retard pubertaire, voire de l'adrénarche pour les enfants sollicités très précocement, avec un pic de masse osseuse diminué (83). Chez l'adulte, une ostéopénie prédominant sur les sites non sollicités par l'activité sportive est également constatée (13, 87). Les troubles de la croissance pourront être réversibles à l'arrêt de la carrière sportive ou avec la reprise pondérale, à condition que les cartilages de croissance ne soient pas soudés. En revanche, le pronostic du déficit d'acquisition du pic de masse osseuse et de l'ostéopénie de l'adulte jeune semble plus réservé, avec la possibilité du développement précoce d'une ostéoporose (88). Le manque de suivi de cohortes d'enfants ou d'adultes jeunes SHN ne permet cependant pas de préciser les liens entre l'intensité, la durée de la pratique et les conséquences hormonales de ces troubles.

## **2.3.4 Le dopage**

### **2.3.4.1 Définition, réglementation et aspects médico-légaux**

Il n'existe pas de définition universellement admise du dopage. Sur un plan légal, « il est interdit, en vue de participer à des compétitions, d'utiliser des substances ou des procédés thérapeutiques destinés à modifier artificiellement les capacités physiques ou à masquer l'emploi de substances ayant ses propriétés<sup>12</sup> ».

---

<sup>12</sup> article L 3631-1 du code de Santé publique

Cette définition juridique réduit le dopage à une population particulière – les sportifs compétiteurs qu'ils soient ou non licenciés – et le limite à une liste de substances et de méthodes interdites récemment révisée<sup>13</sup>. Actuellement, cette liste reprend celle élaborée et proposée par l'Agence mondiale antidopage<sup>14</sup>. Elle a été adoptée par le Comité international olympique et par la plupart des fédérations sportives internationales. Elle ne concerne pas les individus qui détournent les médicaments de leur usage thérapeutique pour améliorer également leurs compétences (sociales, physiques, cognitives ou émotionnelles) dans d'autres champs sociologiques que celui du Sport, ou les individus qui détournent de leurs usages les médicaments hors liste (psychotropes, antalgiques ...).

Il faut également signaler que cette liste est scindée en 3 sous listes à savoir celle des substances et méthodes interdites en compétition, celle des substances et méthodes interdites en et hors compétition, et celle des substances spécifiques (89). Ces distinctions ont été établies pour ne rechercher que les substances qui ont un effet ergogène uniquement dans certaines disciplines sportives (par exemple alcool et sports de précision) et surtout pour permettre au sportif de se soigner en dehors des compétitions. Cela pose un réel problème avec la pharmacocinétique d'élimination de certaines substances. En effet, un médicament administré quelques jours avant une compétition et dont les effets biologiques auront disparu, pourra être détecté lors d'un contrôle antidopage, le sportif risquant d'être sanctionné alors qu'il aura respecté le règlement

A cette réglementation, s'ajoutent les dispositions d'autorisation d'utilisation thérapeutique prévues par le code mondial antidopage<sup>15</sup> où, théoriquement, toute substance interdite peut être utilisée en compétition après accord d'une agence compétente (comité d'autorisation d'utilisation thérapeutique). En pratique, cela concerne majoritairement les GC locaux et les  $\beta_2$  mimétiques inhalés. S'il est improbable que des autorisations soient accordées pour des substances comme l'érythropoïétine, en revanche d'autres - comme certains traitements substitutifs hormonaux (insuline, stéroïdes anabolisants) – le seront vraisemblablement, posant alors les problèmes délicats de l'évaluation de la justification de ces demandes et du contrôle du respect des posologies, mais aussi d'éthique et de responsabilité médicales. En effet, doit-on autoriser des sportifs à participer à des compétitions de haut niveau dont on sait

---

<sup>13</sup> Arrêté du 20 avril 2004 relatif aux substances et aux procédés mentionnés à l'article L. 3631-1 du code de la santé publique

<sup>14</sup> L'agence mondiale antidopage a été créée en 1999 conjointement par les gouvernements et le mouvement sportif international dans le but d'harmoniser et d'améliorer la lutte antidopage

<sup>15</sup> Cf. note 14

(au moins pour certaines disciplines) qu'elles représentent un risque important pour le sportif ou pour la sécurité des autres participants ?<sup>16</sup>

#### 2.3.4.2 *Epidémiologie et mode de pratiques*

Le fait que le sportif convaincu de dopage soit exposé à des sanctions disciplinaires, ces pratiques restent « clandestines ». Cela rend difficile l'appréciation de la prévalence et la connaissance des pratiques du dopage chez les SHN et les compétiteurs.

Quatre grandes sources permettent de l'appréhender, celles provenant des études transversales effectuées dans les populations d'adolescents et d'adultes jeunes, des contrôles antidopage, des saisies douanières ou policières qui ont été relayées dans les médias et des cas ponctuels présentés par les sportifs « repentis » ou dans les publications médicales relatant une complication liée à l'absorption de produit dopant.

**Les données issues des enquêtes de prévalence** [revue in (90)] révèlent qu'entre 3 et 5% des adolescents et 5 à 15% des adultes jeunes auraient recours à l'usage de produits dopants. La plupart de ces études concernent la population générale et se sont intéressées à la consommation de stéroïdes anabolisants. Il existe une surreprésentation masculine avec un sexe ratio d'environ 3/1. L'âge moyen de la première prise est de 14 ans.

Une relation positive entre le niveau de pratique sportive et le dopage a été mise en évidence au sein d'une population d'adolescents de la région Midi Pyrénées (91), 1,8% des adolescents non-compétiteurs contre 7,7% des sportifs ayant pratiqué au niveau national ont déclaré avoir utilisé des substances interdites. Ces données ont été confirmées par d'autres enquêtes nationales (92). Dans une population de 2000 sportifs amateurs, Laure *et al.* (93) ont trouvé que 9,5% de sportifs avaient utilisé des produits dopants (essentiellement stimulants, stupéfiants, GC) dont 60% avaient été prescrits. Dans environ 20% des cas, ces substances étaient prises en association.

Quelques éléments se dégagent de ces études : (i) le cadre du dopage déborde largement le cadre de la pratique sportive (ii) il existe une augmentation de la fréquence d'utilisation des produits dopants avec le niveau de compétition (iii) le dopage s'inscrit dans le cadre d'une polyconsommation de produits dont certains effets – qu'ils soient volontairement recherchés ou non – sont psycho-actifs. L'utilisation de ce type de produits peut expliquer pour partie les relations entre dopage, pharmacodépendance et toxicomanie constatées chez certains sportifs (Cf. supra). (iv) Dans le sport amateur, la plupart des produits sont prescrits (stimulants,

<sup>16</sup> Cf. cas Franck Bouyer pour autorisation thérapeutique standard du MODAFINIL en compétition cycliste récemment accordée fin août 2005 par l'AMA.

glucocorticoïdes), soulignant le rôle des médecins dans la diffusion du dopage de masse, même si cette « aide pharmacologique » est le plus souvent involontaire. En France, cela n'est probablement pas le cas pour les produits dopants tels que l'érythropoïétine ou l'hormone de croissance recombinantes pour lesquelles la prescription est réglementée, même si ces médicaments qui relèvent de la prescription d'exception sont maintenant délivrés dans les officines.

**Données issues des contrôles antidopage :** En France, chaque année, 7000 à 8000 échantillons d'urine, sont analysés par le laboratoire national de dépistage du Dopage (Cf. tableau I).

**Tableau I : Evolution des contrôles antidopage réalisée en France (94)**

	1999	2000	2001	2002	2003	2004
Nombre de contrôles antidopage	7726	7966	7235	7262	8105	8195
Rapports d'analyse positifs (en %) <sup>17</sup>	3,60	4,02	5,23	6,80	6,30	4,8

On constate une augmentation du nombre de rapports positifs qui est attribué principalement à l'augmentation du nombre de contrôles hors compétition, mais également à la recherche des GC qui a débutée en 2000 dans le Cyclisme et s'est généralisé à l'ensemble des fédérations sportives en 2002 (Cf. tableau II). Il faut noter qu'environ 40% des échantillons urinaires proviennent des sportifs pratiquant le Cyclisme, l'Athlétisme, le Football ou le Rugby. On peut remarquer que ces pourcentages sont à la fois surévalués car ils incluent les constats de carence, mais également sous-évalués car certains rapports d'analyse ne sont pas considérés comme positifs si la concentration urinaire mesurée est inférieure au seuil de positivité prévu réglementairement pour certaines substances (par exemple seuil de 2 ng/ml pour la nandrolone ou 100 ng/ml pour les  $\beta$ 2 agonistes adrénergiques).

Le tableau II montre la fréquence élevée de l'utilisation des GC par le sportif qu'ils aient ou non fait l'objet de prescriptions. L'accroissement de la fréquence des cas positifs de GC est probablement dû au fait que ces molécules ont été recherchées dans l'ensemble des disciplines sportives alors qu'elles n'étaient initialement recherchées que chez les cyclistes.

<sup>17</sup> La notion de « rapport d'analyse positif » signifie la présence de substances dopantes interdites ou soumises à restriction (avec ou sans justification thérapeutique) mais exclut toute substance à seuil dont le taux ne permet pas de déclencher une procédure disciplinaire. Un contrôle antidopage est également considéré comme positif dès lors que le sportif ne s'y est pas soumis. On appelle ce cas « constat de carence ». Ils représentent environ 2,8 % des contrôles positifs.

Cependant, ces données ne fournissent aucun renseignement permettant de relier la présence d'une substance dans les urines à une pratique de dopage puisque ces médicaments font l'objet d'autorisation d'utilisation thérapeutique. Par ailleurs, certaines substances qui sont actuellement indétectables (par exemple insuline, GH, ACTH) échappent à toute statistique.

**Tableau II : Evolution et répartition (en %) des principales substances mises en évidence dans les contrôles antidopage (89)**

	2000	2001	2002
Cannabis	25	25	21
Salbutamol	22	21	12
Glucocorticoïdes	16	17	42
Stimulants	16	19	8
Stéroïdes anabolisants	10	9	5

***Les sources judiciaires et les saisies douanières :***

Ces dernières années, les saisies douanières, notamment dans les milieux cyclistes professionnels (Tour de France 1998, Giro 2000, affaire Rumsas 2002), ont révélé la diversité des classes pharmaceutiques susceptibles d'être utilisées par ces sportifs, parfois même avant que celles-ci ne soient commercialisées. Les révélations de certains coureurs lors des procès qui ont suivi, ont confirmé l'importance et la fréquence des doses utilisées. Par exemple, on peut citer les 37 produits saisis dans le coffre de la voiture de l'épouse du coureur lituanien (In l'Equipe du 12/09/2002) qui contenait, entre autres, des dérivés hormonaux (GH, insuline, testostérone, GC), des produits stimulants, des vasodilatateurs, du matériel à perfusion et des seringues usagées dont l'analyse toxicologique révélera a posteriori des traces d'érythropoïétine. Ces cas, même s'ils ne démontrent pas la généralisation de telles pratiques à l'ensemble du sport de haut niveau, génèrent plusieurs commentaires : (i) ils mettent en évidence un décalage entre les substances qui sont habituellement détectées au cours des contrôles antidopage et celles qui sont susceptibles d'être utilisées par les sportifs de haut niveau parce qu'elles ne sont pas décelées<sup>18</sup> (la plupart des hormones peptidiques et leurs sécrétagogues). (ii) certains de ces médicaments n'étant plus produits en France (la plupart des stéroïdes anabolisants) ou réservés à l'usage hospitalier, leur utilisation n'est possible que

<sup>18</sup> L'hormone de croissance n'est pas détectée. En France, l'érythropoïétine recombinante et les GC ne sont détectés que depuis 2000.

s'il existe des sources de fabrication et/ou d'approvisionnement clandestines et illégales. Les utilisateurs s'exposent alors à des sanctions pénales (iii) compte tenu des propriétés pharmacologiques de ces substances, on devine que la finalité de leur usage est non seulement d'améliorer la performance, mais également la récupération ou la lutte contre les effets secondaires. (iv) étant donné la complexité et la difficulté à manipuler certains médicaments, la diffusion de l'utilisation de ces produits n'a pu s'effectuer sans l'apport des connaissances physiologiques et pharmacologiques issues du « monde » médical et scientifique.

#### 2.3.4.3 Détection du dopage

Après un contrôle antidopage, une analyse est considérée comme positive si elle révèle la présence d'une molécule interdite dans un liquide biologique (urine essentiellement non seulement en raison de sa facilité de recueil, mais également parce qu'elle concentre les substances absorbées). Les techniques de dosage employées qui sont de plus en plus performantes (chromatographie gazeuse avec spectrométrie de masse) recherchent les métabolites urinaires des substances interdites (excepté pour les substances non transformées par le foie ou le rein).

Pour les xénobiotiques qui ont une composition chimique identique à celle des substances naturellement excrétées dans les urines, le législateur a prévu plusieurs situations. Les échantillons urinaires seront considérés comme caractéristiques de l'absorption illicite d'un produit :

- Au delà d'une certaine concentration comme pour la nandrolone ou pour certaines substances pouvant être absorbées de manière passive (cannabis) ou par des voies autorisées (bêta 2 mimétiques inhalés).
- Lorsque le rapport de deux métabolites chez un sportif sera supérieur à une certaine valeur (par exemple rapport testostérone/épitestostérone  $>4$  pour les stéroïdes anabolisants<sup>19</sup>).

Ces seuils de précautions, qui ont la plupart du temps été définis arbitrairement, sont fréquemment l'objet de remise en question. De nouvelles méthodes de détection des hormones stéroïdiennes basées sur l'analyse des isotopes du carbone seront applicables en 2006 (les hormones synthétisées par l'organisme contiennent majoritairement du C12 alors que le C13 provient des stéroïdes de synthèse).

#### **Dépistage indirect :**

<sup>19</sup> Au delà de cette limite en 2006, la réglementation prévoit une analyse complémentaire par analyse isotopique.

Pour pallier l'absence de détection de certaines substances (GH et ses sécrétagogues, IGF1, insuline, ACTH), des méthodes dites « indirectes » ont été proposées. Elles sont basées sur l'analyse de paramètres sanguins dont la modification traduit de manière hautement probable en l'absence de maladie, l'administration d'une substance interdite. Il a été proposé l'utilisation d'un paramètre unique (dépistage de l'EPO) ou d'une combinaison de paramètre (EPO, GH).

### ***Dépistage de l'abus d'érythropoïétine recombinante (Rh EPO)***

- **Seuils de précautions :**

Compte tenu de la large utilisation de l'érythropoïétine recombinante – en particulier dans les disciplines d'endurance - et avant l'utilisation d'une méthode de détection urinaire (95), certaines fédérations internationales ont mis en place des seuils de précautions basés sur des prélèvements sanguins. Au delà d'une valeur limite d'hémoglobine ou d'hématocrite, les sportifs ne peuvent participer à une compétition. Ces « no start » ont été initialisés par l'Union Cycliste Internationale en 1997, lorsque le taux d'hématocrite était supérieur à 50%. D'autres fédérations (fédération Internationale de Ski, International Biathlon Union ...) utilisent le taux d'hémoglobine - généralement supérieur à 180 g/L pour tenir compte des effets de l'altitude. Ces limites artificielles ont souvent été critiquées, soit parce qu'elles ne correspondent pas à des valeurs pathologiques (Hématocrite > 50%), soit parce que certains sportifs peuvent avoir des valeurs élevées en l'absence de manipulations pharmacologiques.

- **Combinaison de paramètres :**

Pour améliorer la sensibilité des méthodes de détection indirecte et pour élargir la période pendant laquelle il est possible de détecter une prise de Rh EPO, certains auteurs (96, 97) ont proposé une combinaison de paramètres qui reflètent l'augmentation de l'érythropoïèse. En plus des paramètres « classiques » de l'érythropoïèse (hématocrite, hémoglobine, volume globulaire), le comptage des réticulocytes (cellules précurseurs des hématies, notamment les formes immatures), et le dosage de la concentration plasmatique des récepteurs solubles à la transferrine (sTFR) (reflet indirect de l'érythropoïèse en l'absence de carence martiale) ont été récemment proposés (96, 97).

Parisotto *et al.* (97) proposent en effet un modèle « on » pendant la prise d'EPO et un modèle « off » après la prise d'EPO basé sur la cinétique des principaux marqueurs de l'érythropoïèse. Ces modèles sont exposés dans le tableau III.

**Tableau III : Détection indirecte de l'abus d'EPO recombinante d'après (97)**

<b>Modèles « on »</b>	On-he = Hb + 9. ln(EPO)
	On-hes = Hb + 6.62 x ln(EPO) + 19.4 x ln (sTFR)
<b>Modèles « off »</b>	Off-hr = Hb – 60 x $\sqrt{(\text{Ret})}$ *
	Off-hre = Hb – 50 x $\sqrt{(\text{Ret})}$ – 7 x ln (EPO)

Hb : concentration hémoglobine (g/L), EPO concentration plasmatique érythropoïétine (mUI/L),  
Ret : % réticulocytes, sTFR : serum transferrin receptor (mg/L). he : combinaison hémoglobine-EPO, hes :  
hémoglobine-EPO-STFR, hr : hémoglobine-réticulocytes, hre : hémoglobine-réticulocytes-EPO

\* Le modèle Off-Hr est utilisé par l'Union Cycliste Internationale depuis 2004 comme « no-start ».

On peut reprocher à cette méthode son manque de spécificité car le seuil de sécurité de ces paramètres est important. Autrement dit, certains sportifs seront faussement négatifs alors qu'ils auront pris de la Rh EPO. Par ailleurs, ces valeurs ont été établies à l'aide d'un automate donné (pour hémoglobine et réticulocytes) avec une molécule de Rh EPO ayant des propriétés pharmacologiques propres. Il n'est pas certain que des expérimentations effectuées avec d'autres automates d'hématologie et d'autres molécules recombinantes donnent les mêmes résultats. Enfin, d'autres produits dopants (stéroïdes anabolisants, GC) peuvent stimuler l'érythropoïèse et modifier également ces paramètres. Pour ces raisons, ces nomogrammes ne peuvent pas être utilisés dans la détection de l'abus d'érythropoïétine pour sanctionner les sportifs.

### ***Dépistage de l'abus d'hormone de croissance***

Il n'existe pas actuellement de test permettant la détection d'un apport exogène de GH. Les difficultés sont liées au fait que la molécule recombinante et l'hormone naturelle ne sont pas distinguables et, d'autre part, au fait que, durant l'exercice, l'excrétion rénale de GH est considérablement augmentée limitant l'interprétation d'un taux élevé de GH urinaire après une compétition. Par ailleurs son dosage plasmatique est difficilement interprétable car la GH est sécrétée de manière pulsatile, est puissamment stimulée par le stress et sa demi-vie plasmatique est brève (98),.

Deux méthodes indirectes basées sur le dosage de paramètres sanguins, sont proposées :

- La première utilise le principe de l'inhibition du rétrocontrôle inhibiteur de la sécrétion hypophysaire par l'administration exogène de GH. L'hypophyse sécrète majoritairement 2 isoformes de GH : la principale de 22 kDa représentant environ 90% de la GH circulante et une isoforme de 20 kDa. En cas d'apport exogène de GH, sachant que la GH recombinante est

une isoforme de 22 kDa et que son administration entraîne le rapport 20 kDa/22 kDa s'effondre. Le dosage plasmatique de la GH 20 kDa peut être obtenu directement en utilisant un anticorps monoclonal spécifique non disponible (99) ou par soustraction en utilisant un anticorps monoclonal anti-22 kDa et un anticorps polyclonal anti-(20 + 22) kDa (100). Les limites de cette technique sont liées aux effets brefs (environ 24 heures) de l'hormone recombinante sur l'organisme et à la faible quantité de GH 20 kDa circulante à l'état basal physiologique, souvent à la limite du seuil de détection. Elle perd également toute valeur si une GH recombinante comportant un mélange « physiologique » des 2 isoformes était disponible ou si des substances sécrétagogues de la GH (GHRH, GH related peptides) étaient administrées.

- La seconde méthode de détection est basée sur les effets induits par l'administration de GH sur l'IGF1 et ses protéines de liaison spécifiques (IGFBP), ainsi que sur les marqueurs du remodelage des tissus osseux et conjonctifs. L'utilisation d'une combinaison de ces paramètres est proposée par plusieurs auteurs (101-103).

La physiologie de l'axe somatotrope étant abordée plus loin, nous signalons que la GH régule positivement les concentrations plasmatiques d'IGF1 dont la forme de circulation principale est intégrée dans un complexe ternaire de 150 kDa associant l'IGFBP3 et l'ALS, ces 2 dernières étant aussi stimulée par la GH. Elle régule négativement certaines IGFBP, dont IGFBP1 et IGFBP2 (104). Elle augmente également la concentration plasmatique des marqueurs du remodelage osseux collagéniques (télopeptides du procollagène de type I et produits issus de la dégradation du collagène I), non collagéniques (ostéocalcine) et précurseurs du collagène de type III (103, 105).

Cette méthode s'avère sensible car les concentrations plasmatiques de ces paramètres sont relativement stables sur un nyctémère (104, 106), varient dans des proportions très faibles au cours d'un effort musculaire et restent élevés plusieurs jours après l'administration de GH (103).

Au contraire, son manque de spécificité limite son application car il existe de nombreux facteurs confondants chez le sportif qui peuvent modifier ces paramètres ou masquer leur augmentation (fractures, restriction calorique, utilisation de GC, stéroïdes anabolisants) (Cf. chapitre 4 et 5 sur la régulation de l'axe somatotrope et du remodelage osseux).

#### 2.3.4.4 Effets recherchés par l'utilisation de produits dopants

Il existe de nombreuses difficultés à démontrer expérimentalement les effets des produits dopants sur la performance (effets ergogènes). Parmi ceux-ci on peut citer :

(i) Les différences entre les conditions expérimentales des essais thérapeutiques, et les conditions réelles (ou supposées comme telles) d'utilisation par le sportif (107-109):

- La méconnaissance des doses utilisées : il est difficile de connaître exactement les posologies employées par les sportifs. Ainsi la démonstration de l'efficacité des stéroïdes anabolisants a été longtemps retardée parce que leurs effets sont proportionnels aux doses administrées, alors que les protocoles expérimentaux employaient des doses inférieures et pendant une durée insuffisante (107, 109),
- L'utilisation en monothérapie alors que le dopage relève d'une polyconsommation à la recherche d'effets synergiques entre les produits.

(ii) Les conditions expérimentales qui ne permettent pas de contrôler l'ensemble des facteurs responsables de la performance

(iii) Les cohortes sont insuffisantes pour détecter des effets minimes qui, cependant, peuvent être déterminants sur la performance. En effet, les écarts de performance à très haut niveau sont très faibles et nécessitent donc des études qui ont une puissance statistique suffisante (risque d'erreur de type  $\beta$ ).

(iv) La plupart des études recherchent des effets sur le gain de force et de masse musculaire, ce qui limite la mise en évidence d'éventuels effets sur la puissance aérobie,

(v) Peu d'études concernent des sportifs très entraînés,

(vi) Il existe probablement des variations individuelles avec des sujets répondeurs et non-répondeurs, tolérants différemment de fortes doses de produits,

(vii) Les conditions expérimentales doivent respecter les contraintes éthiques ce qui limite le développement d'expérimentations qui pourraient simuler les protocoles supposés de dopage.

Le tableau IV donne un aperçu (non exhaustif) des motifs de l'utilisation de produits ou procédés susceptibles d'avoir un effet ergogène, ainsi que les propriétés pharmacologiques qui seraient impliquées. En effet, seuls quelques essais randomisés et contre placebo ont permis de démontrer l'efficacité de certains produits sur la performance en endurance pour l'EPO (110) ou en force et sur la masse musculaire pour les stéroïdes anabolisants (109). L'éphédrine associée à la caféine (111) ou les  $\beta$  agonistes adrénergiques (112) par voie générale améliorent également la force maximale volontaire.

Il montre également que certains produits peuvent être utilisés pour leurs effets ergogènes directs et/ou pour réduire les effets de la fatigue (amélioration de la récupération, lutte contre la douleur ...) ou pour masquer certains effets secondaires. Ainsi, la logique d'un dopage

« bien conduit » nécessite l'association de plusieurs produits. Dès lors, démontrer l'efficacité du dopage est d'une extrême difficulté dans le cadre d'études expérimentales.

Il permet également de concevoir l'importance des effets iatrogènes qui pourront découler de l'utilisation de ces produits bien que les relations de causalité soient parfois difficiles à établir (107).

**Tableau IV : Principaux effets recherchés par les substances ou procédés dopants**

Effets recherchés	Mécanismes physiologiques supposés	Substances en cause
Augmentation de la puissance aérobie	Augmentation du débit cardiaque par effet inotrope positif, par augmentation du volume plasmatique ou diminution des résistances périphériques	Transfusions auto ou hétérologues Perfusion de macromolécules Agonistes $\beta$ adrénergiques Vasodilatateurs ? GC ?, GH ?, SA ?
	Augmentation du transport d'oxygène	EPO, Transfusions auto ou hétérologues Hémoglobines de synthèse GH ? IGF 1 ? GC ? SA ? Séjours en atmosphères hypoxiques ?
	Augmentation de la diffusion de l'oxygène	EPO ?, facteurs d'angiogenèse recombinants ? RSR 13
	Augmentation du métabolisme oxydatif	EPO ? SA ?
	Action lipolytique	GH, stimulants alpha agonistes adrénergiques, caféine
Augmentation de la puissance anaérobie	Augmentation de la masse musculaire	SA, GH ?, Insuline ?, IGF 1 ?
	Augmentation de la relation force/vitesse du muscle strié squelettique	SA
Augmentation de la disponibilité des réserves énergétiques *	Amélioration de la pénétration cellulaire du glucose	Insuline, IGF 1, EPO ?
	Augmentation des stocks de glycogène hépatique et musculaire	GC, Insuline, IGF1
Lutte contre la fatigue centrale	Effets psycho-actifs sur récepteurs adrénergiques, sérotoninergiques ou neurostéroïdiens	Stimulants (éphédrine), inhibiteurs du recaptage de la sérotonine, GC ?, SA ?
Lutte contre les effets de l'anxiété	Effets neurologiques centraux sur récepteurs spécifiques	Anxiolytiques, bêtabloqueurs, alcool, cannabis, nicotine
Lutte contre la détection des produits	Hémodilution Diminution de la demi-vie plasmatique Acidification des urines	Dérivés macromoléculaires Diurétiques Hypouricémiants
Lutte contre la douleur	Antalgie centrale ou périphérique	Antalgiques Anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens
Lutte contre certains effets secondaires	Diminution de l'agrégation plaquettaire Diminution de la viscosité sanguine Diminution de l'hyperœstrogénie Diminution des effets de l'hypogonadisme	Antiagrégants, anticoagulants, Vasodilatateurs Anti-œstrogènes, inhibiteurs de l'aromatase B HCG, Clomifène, LHRH

#### 2.3.4.5 Conséquences sanitaires du dopage

Même si le sportif qui utilise des produits dopants est conscient des risques qu'il prend pour sa santé (sans toutefois les appréhender de manière précise), ceux-ci ne constituent pas un

frein efficace à leur consommation. En effet, chez ces sujets jeunes qui se sentent invulnérables, l'idée d'obtenir un bénéfice à court terme sur la performance, prend le pas sur celle d'éventuels effets secondaires. Il est difficile d'en établir une liste exhaustive, mais on peut en proposer la liste suivante selon la gravité, le caractère aigu ou non :

#### ***Mort subite ou risques vitaux***

Les mécanismes possibles sont les accidents thromboemboliques, les troubles du rythme du rythme cardiaque, le spasme coronarien, l'insuffisance rénale aiguë par rhabdomyolyse (113). Les substances en cause sont celles qui vont provoquer une augmentation de la viscosité sanguine, une hyperagrégabilité plaquettaire (essentiellement EPO, transfusions sanguines, stéroïdes anabolisants), provoquer une hyperadrénergisme (stimulants, agonistes adrénergiques) ou des troubles métaboliques arythmogènes (hypokaliémie sous GC ou diurétiques, ou hyperkaliémie d'une insuffisance rénale aiguë). Ces complications sont probablement favorisées par le surdosage, les associations médicamenteuses ou l'existence d'une cardiopathie sous-jacente - congénitale ou iatrogène - (GH, stéroïdes anabolisants).

On peut signaler également les risques métaboliques tels que l'hypoglycémie insulinique (114), ainsi que l'insuffisance surrénalienne aiguë post-corticothérapie (115) qui sera développée plus loin.

#### ***Morts violentes : Suicides ou décès par accident de la voie publique***

L'utilisation de substances ayant des propriétés psycho-actives peut s'accompagner d'accès psychotiques, d'épisodes dépressifs sévères (particulièrement en période de sevrage (71)) ou d'altération de la vigilance. Ces complications peuvent survenir après l'arrêt de la carrière sportive probablement parce que certains sportifs ont développé une pharmacodépendance et qu'ils continuent d'utiliser ces produits.

#### ***Accidents aigus pouvant remettre en cause la carrière sportive***

Il s'agit de ruptures tendineuses ou musculaires qui peuvent être favorisées par l'utilisation de stéroïdes anabolisants ou de GC (administration locales).

Les troubles du comportement induits par la consommation de substances ayant des effets psycho-actifs (en particulier stéroïdes anabolisants) peuvent entraîner des conduites hétéro-agressives vis à vis des adversaires ou partenaires. Ils peuvent entraîner des sanctions disciplinaires voire pénales.

#### ***Risques chroniques***

Aucune étude épidémiologique n'a mis en évidence la réduction de l'espérance et/ou de la qualité de vie des SHN et encore moins de la relier au dopage (Cf. § effets délétères de la pratique intensive du sport). Compte tenu des produits utilisés, il est probable que certains

sportifs qui ont eu recours de manière prolongée à ces substances (particulièrement chez les sujets devenus pharmacodépendants (71, 116) pourront développer certaines complications. Par analogie avec certaines maladies, on peut envisager :

**Le développement de maladies cardiovasculaires** par altération du profil lipidique, développement d'une insulino-résistance (GH, GC, stéroïdes anabolisants, hémochromatose iatrogène) comme on peut le voir dans certaines situations pathologiques (acromégalie, maladie de Cushing, hémochromatose).

**Le développement de cardiomyopathies et d'insuffisance cardiaques** chez les utilisateurs de GH et/ou d'anabolisants (113).

**Le développement de cancers** notamment coliques et hormonodépendants (prostate) pour les usagers de stéroïdes anabolisants. D'autre part, certaines publications ont montré qu'il existait une relation positive entre l'augmentation du risque de cancer et les concentrations plasmatiques d'IGF 1 (47, 117).

A part, le risque de **transmission de maladies infectieuses** (hépatites, SIDA) qui est lié à l'administration parentérale des produits, comme cela est décrit chez les toxicomanes. Le risque de transmission de maladie de Creutzfeld-Jacob paraît important chez les culturistes qui utilisent la GH d'origine cadavérique (118).

#### **Retentissement sur les fonctions endocriniennes**

Les conséquences de l'utilisation des stéroïdes anabolisants vont entraîner un hypogonadisme hypogonadotrope réversible après l'arrêt de l'administration, associé à des signes de virilisation, d'infertilité, d'arrêt de la croissance chez l'enfant et des signes d'hyperoestrogénie surtout pour l'utilisation de dérivés aromatisables [revue in (119)]. Les effets des produits hormonaux sur la fonction somatotrope ainsi que ceux sur l'administration de la GH seront abordés au chapitre sur la régulation de la fonction de l'axe somatotrope. Les effets des GC sur la fonction corticotrope seront abordés dans le chapitre sur la régulation de l'axe HHS.

### **2.3.5 Le suivi médical réglementaire des sportifs de haut niveau**

Compte tenu des éléments développés ci-dessus, le législateur<sup>20</sup> a considéré le Sport de haut niveau comme un problème de santé publique et une pratique à risques<sup>21</sup>. Cet enjeu doit être relativisé au regard de celui que représente la lutte contre les effets de l'alcoolisme du tabagisme ou la sédentarité en raison du nombre limité des individus concernés par ces

<sup>20</sup> Cf. note <sup>1</sup>

<sup>21</sup> Cf. note <sup>3</sup>

mesures. Il semble donc que l'adoption de ces dispositions législatives et réglementaires ait été essentiellement motivée pour limiter les effets négatifs du dopage et des conduites à risques des SHN sur la masse des pratiquants, telles qu'elles ont été relayées dans les médias (par exemple lors des événements du Tour de France 1998, ou du décès par surdose du cycliste Marco Pantani en 2004) (120).

L'organisation du suivi médical des SHN, dont les modalités ont été fixées par un arrêté interministériel<sup>22</sup>, est confiée aux fédérations sportives délégataires. Sa réalisation est assurée par le médecin fédéral national. Les objectifs de ce suivi sont, en dehors du dépistage d'une affection intercurrente et des contre-indications à la pratique du Sport de compétition, de dépister les effets délétères induits par la pratique intensive du Sport mais également de dépister et réduire les risques étroitement associés à cette pratique (dopage, troubles des conduites alimentaires). La réalisation de ces objectifs nécessite un contenu adapté qui comprend l'évaluation de la physiologie cardiovasculaire au repos et à l'effort, des données anthropométriques, des aspects nutritionnels (diététiques et comportementaux) et psychologiques et des examens biologiques qui permettent d'apprécier l'hématopoïèse, les réserves martiales et le fonctionnement des principaux axes hormonaux.

Ainsi, les données du suivi de la fédération française de Cyclisme nous ont permis d'apprécier le retentissement de la pratique intensive du Cyclisme sur la leucopoïèse (16), ainsi que la fréquence et les conséquences viscérales d'hémosidéroses provoquées par l'administration itérative de fer au sein d'une population de cyclistes professionnels (15).

---

<sup>22</sup> Cf. note <sup>2</sup>

### 3 *Chapitre III : Physiologie de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien*

Le cortisol est la principale hormone glucocorticoïde produite par l'homme. C'est une hormone stéroïdienne qui est synthétisée à partir du cholestérol (121) dans la zone fasciculée de la corticosurrénale, glande périphérique dont le fonctionnement et la trophicité dépendent de l'intégrité des cellules hypophysaires sécrétant l'ACTH. L'axe HHS joue un rôle clé dans le contrôle du métabolisme glucidique. L'intégrité de son fonctionnement est indispensable pour que l'organisme puisse répondre et s'adapter à toute situation stressante.

#### 3.1 **Régulations principales**

La physiologie normale de l'axe HHS est caractérisée par la sécrétion du cortisol selon un rythme circadien, le respect du rétrocontrôle hypothalamo-hypophysaire de cette hormone et sa capacité de surimposer à tout moment la régulation stimulante du stress (122). L'ensemble du fonctionnement de l'axe HHS est représenté dans la figure n°3.

Les cellules corticotrophes sont localisées dans l'hypophyse antérieure et produisent une pro-hormone (pro opio mélanocortine) dont les modifications post traductionnelles produisent de façon équimolaire la  $\beta$ -lipotropine, la  $\beta$ -endorphine, la mélanine et l'ACTH (123).

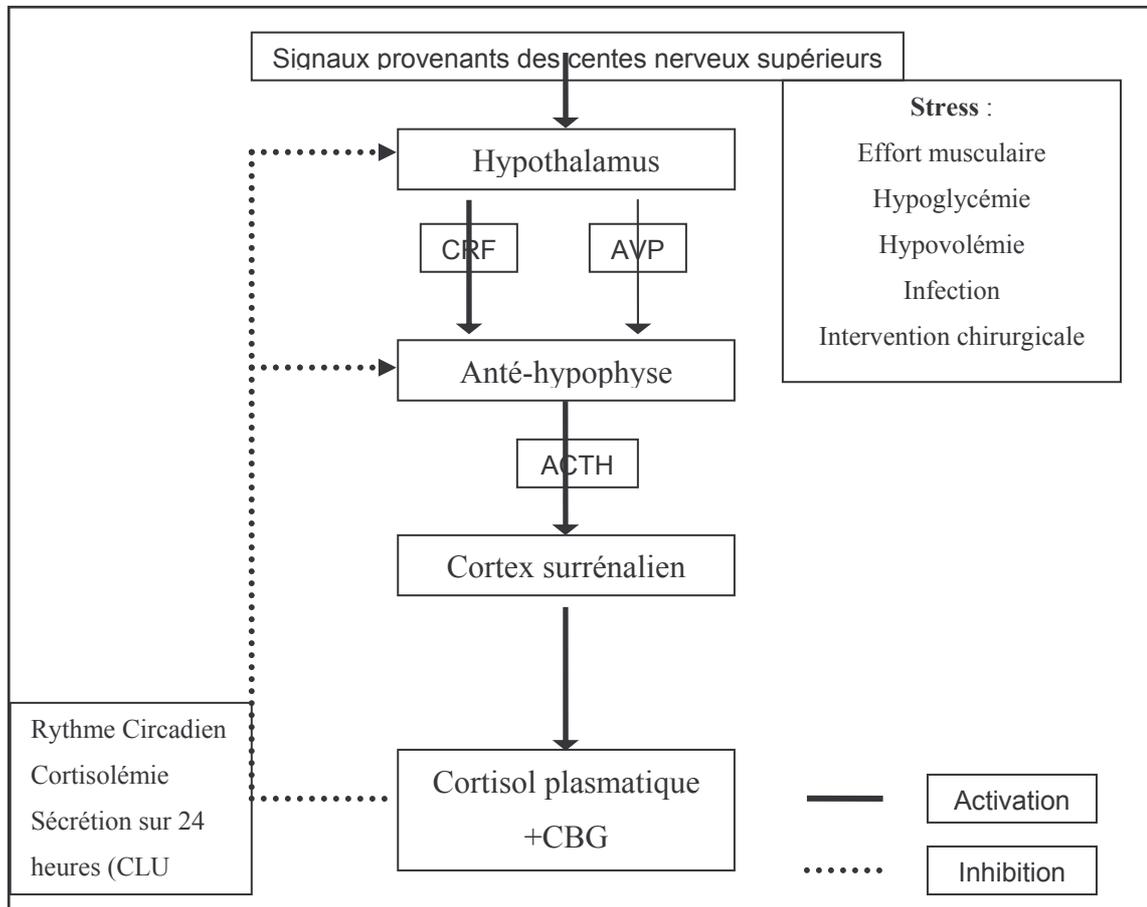
L'ACTH est une hormone peptidique qui est sécrétée de manière pulsatile stimulée par le CRF. Ce neuropeptide est sécrété par les neurones du noyau paraventriculaire de l'hypothalamus. L'arginine vasopressine (AVP) entraîne également à un moindre degré la production d'ACTH (124).

D'autres hormones ont des rôles physiologiques accessoires, potentiateurs ou stimulateurs (catécholamines, angiotensine II, vasoactive intestinal peptide) ou inhibiteurs (atrial natriuretic factor) - de la sécrétion d'ACTH (124, 125). Les neurones produisant le CRF sont sous l'influence de neurotransmetteurs cholinergiques et sérotoninergiques excitateurs et gabaergiques inhibiteurs (125).

**Boucle de rétroaction négative des GC (figure n°3) :** Le cortisol exerce un rétrocontrôle inhibiteur sur la production de CRF et d'ACTH (126), bloquant non seulement la synthèse des transcrits hypothalamiques et hypophysaires, mais également le relargage immédiat d'ACTH après administration de CRF chez l'animal (127). Cet effet est également exercé par les GC de synthèse. Ainsi, l'arrêt de leur administration peut avoir des conséquences vitales lorsque les besoins en cortisol de l'organisme augmentent brutalement (infection, intervention

chirurgicale, traumatisme sévère), parce que le rétrocontrôle inhibiteur qu'ils exerçaient a provoqué une insuffisance surrénalienne hypothalamo-hypophysaire transitoire (128).

**Figure N°3 : Régulations de la fonction hypothalamo-hypophysaire-surrénalienne**



### 3.2 Facteurs influençant la sécrétion de cortisol

#### 3.2.1 Rythme veille - sommeil :

Le cortisol selon un rythme circadien adapté à l'activité nyctémérale humaine. Le pic de sécrétion (acrophase) survient peu avant le réveil, et le nadir en fin de soirée (129). La concentration plasmatique de cortisol peut varier de 750 nmol/L le matin à moins de 100 nmol/L à minuit (122). Ce rythme peut se modifier en cas de décalage horaire dû à des voyages (fréquent chez les sportifs internationaux), voire s'inverser en cas de travail posté.

#### 3.2.2 Contraintes psychologiques physiques et psychologiques (figure n°3) :

Le cortisol est sécrété de manière non spécifique pour répondre à une contrainte aiguë. Les mécanismes neurophysiologiques par lesquels ces facteurs « stressants » augmentent la production de CRF et d'AVP sont mal élucidés (124).

Au cours d'un effort musculaire, il existe des circonstances additionnelles qui augmentent les besoins en cortisol et qui peuvent mettre en cause la sécurité d'un sportif qui aurait une insuffisance surrénalienne fruste post-corticothérapie :

- L'exposition, parfois brutale, à des conditions environnementales extrêmes (froid, chaleur et hypoxie).
- La nécessité d'une intervention chirurgicale après un traumatisme. En effet, les contraintes provoquées par la chirurgie sollicitent puissamment l'axe HHS, notamment au décours de l'anesthésie et durant la phase aiguë post opératoire (130). Les besoins en glucocorticoïdes, qui peuvent être multipliés jusqu'à un facteur 6 (128), nécessitent alors une couverture per opératoire pour éviter une détresse circulatoire car les surrénales sont incapables de répondre à cette brusque augmentation de la demande.
- L'hypoglycémie en cas d'efforts intenses et prolongés réalisés dans certains sports d'endurance (131). L'hypoglycémie augmente la sécrétion de CRH et d'AVP, probablement par un effet direct sur les cellules médio-basales hypothalamiques (132). L'augmentation de la sécrétion de cortisol est alors nécessaire pour augmenter la libération de substrats qui permettront la néoglucogenèse.
- La fréquence d'infections, notamment des voies aériennes supérieures, est plus grande chez les sportifs d'endurance (56). Dans ces situations, certaines cytokines, l'interleukine 1 bêta (IL 1 $\beta$ ) et l'interleukine 6 (IL 6) activent l'axe HHS (133-135), permettant ainsi d'augmenter la production de glucocorticoïdes et de lutter contre l'infection.

### 3.2.3 Age :

Chez le sujet âgé, il existe une modification du rythme nyctéméral avec augmentation plus précoce du cortisol plasmatique le matin (136). Le feed-back négatif est également diminué (136, 137).

### 3.3 Transport plasmatique

L'ensemble des hormones stéroïdiennes, en partie en raison de leur propriété lipophile, circule dans le plasma sous forme liée à des protéines porteuses. D'un point de vue théorique, il est admis que, seule la fraction non liée aux protéines (ou fraction libre), reflète la concentration intracellulaire des hormones stéroïdiennes et donc de l'activité biologique (138).

Aux concentrations physiologiques, plus de 90% du cortisol transporté par voie sanguine circule est lié (126), soit à la CBG (Cf. figure N°3) pour 75% (protéine spécifique de haute affinité), soit, de manière résiduelle et à part équivalente, à l'albumine et aux globules rouges (139). La CBG est une  $\alpha$  2 globuline essentiellement synthétisée par le foie (126) avec une

capacité de transport saturée pour des concentrations plasmatiques d'environ 700 nmol/L. Au delà de ces concentrations, la fraction libre du cortisol augmente et déplace les hormones qui ont une moins bonne affinité (déoxycortisol, aldostérone) augmentant leur clairance métabolique (140). La plupart des GC de synthèse ne se fixent pas sur la CBG excepté la prednisolone et la prednisone (140).

Les rôles physiologiques exacts de la CBG, en dehors de sa fonction de transport et de réservoir plasmatique, ne sont pas clairement élucidés. La variation de son affinité pour le cortisol peut également moduler les effets biologiques de l'axe HHS et modifier la clairance métabolique du cortisol (141).

Les concentrations plasmatiques de CBG varient modérément en fonction de l'âge. Elles sont supérieures à celles de l'adulte jeune chez l'enfant pré-pubère et inférieures chez le sujet âgé. Elles ne sont pas influencées par le sexe, le moment du cycle menstruel ni celui du nyctémère (142). Elles peuvent augmenter de 200 à 300% lors de l'administration d'œstrogènes ou pendant la grossesse, ou diminuer dans des situations pathologiques comme l'hyperthyroïdie ou des maladies hépatiques ou lors d'un traitement par GC (142). Ainsi, les valeurs de la concentration plasmatique du cortisol total peuvent atteindre plus de 1000 nmol/L chez la femme enceinte ou sous contraception œstroprogestative. Par le même mécanisme, la concentration plasmatique du cortisol est également augmentée lors de l'administration de modulateurs sélectifs des récepteurs aux œstrogènes (tamoxifène, raloxifène ....) (143). Cette augmentation de la CBG, qui se traduit par une augmentation de la concentration plasmatique du cortisol total, ne s'accompagne pas d'hypercorticisme puisque la fraction libre du cortisol n'augmente pas.

### **3.4 Métabolisme du cortisol**

Le cortisol et les GC sont principalement métabolisés par le foie où ils subissent des réactions de réduction, oxydation, hydroxylation et de conjugaison (144).

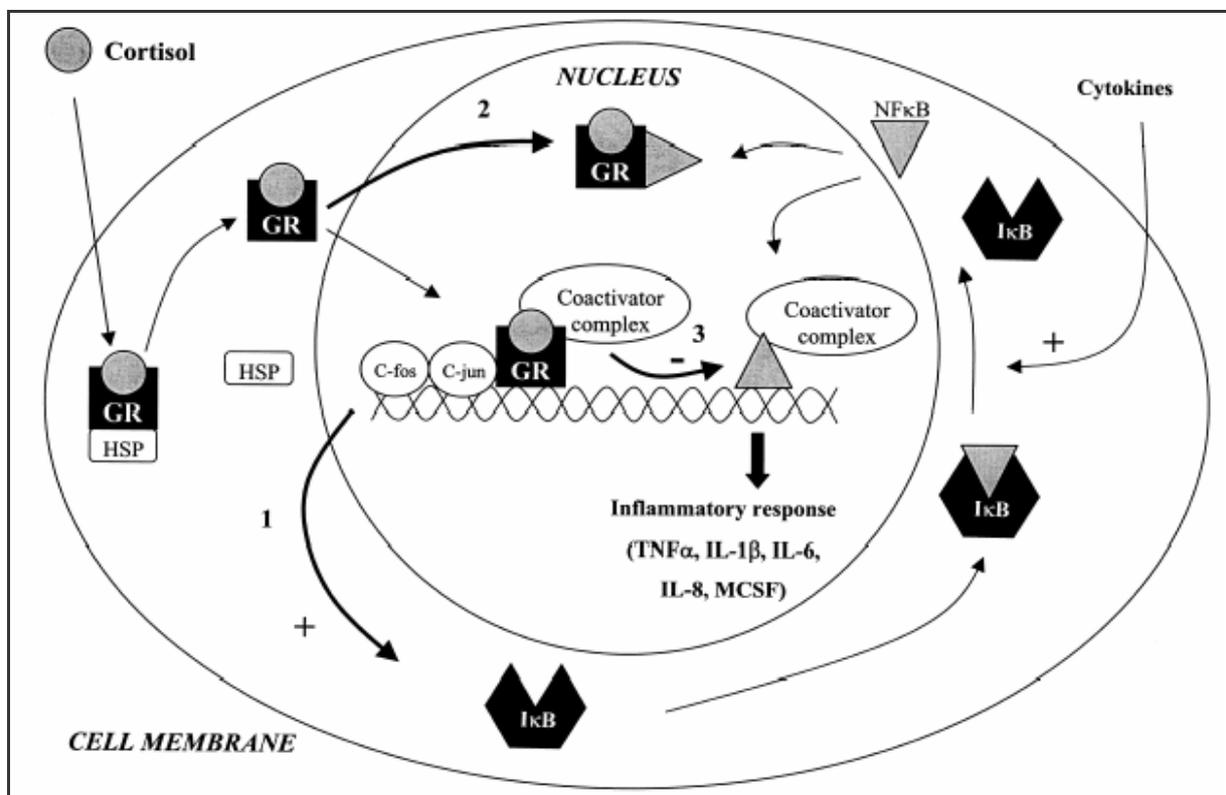
La 11 bêta hydroxystéroïde déshydrogénase (11  $\beta$  HSD) mérite une attention particulière. En effet, le cortisol peut être également oxydé de manière réversible en cortisone, forme biologiquement peu active grâce à cette enzyme qui existe sous 2 isoformes. La 11  $\beta$  HSD1 qui est principalement exprimée dans le foie mais également dans le tissu osseux et adipeux, réduit la cortisone en cortisol et joue un rôle important dans la régulation de la concentration tissulaire de cortisol (145). La 11  $\beta$  HSD2 s'exprime dans les tissus où il existe des récepteurs minéralocorticoïdes (rein, colon, glandes salivaires, cerveau). Cette enzyme limite la

compétition entre le cortisol et l'aldostérone pour privilégier les effets minéralocorticoïdes (126).

### 3.5 Effets biologiques des glucocorticoïdes

Les GC exercent leurs effets sur les tissus cibles en se liant à un récepteur soluble intracytoplasmique (figure n°4). Les GC peuvent se lier soit avec un récepteur de type I ou MR qui a une plus haute affinité pour l'aldostérone et dont la liaison avec le substrat aura des effets minéralocorticoïdes, soit avec un récepteur de type II ou GR qui a une affinité élective pour le cortisol et les GC de synthèse dont la liaison avec le substrat entraînera des effets GC.

Figure n°4 : Mécanisme d'action des glucocorticoïdes : Effet anti-inflammatoire d'après (126)



La formation du complexe GR-cortisol - après certaines modifications (dimérisation et dissociation d'un fragment protidique (heat shock protein (HSP)) - va se fixer à l'ADN nucléaire (GR responsive element) en association avec la protéine 1 activatrice (AP-1) comprenant c-fos et c-jun et promouvoir la transcription de gènes cibles spécifiques pour que les effets biologiques. Les effets anti-inflammatoires (Cf. figure n°4) s'exercent de plusieurs façons : (i) Ils induisent la synthèse d'une protéine I $\kappa$ B qui inactive la protéine NF $\kappa$ B responsable de la réponse inflammatoire. (ii) le complexe GR-cortisol est capable de fixer

NF $\kappa$ B empêchant ainsi son action. (iii) Le GR et NF $\kappa$ B sont en compétition pour limiter la disponibilité du complexe coactivateur.

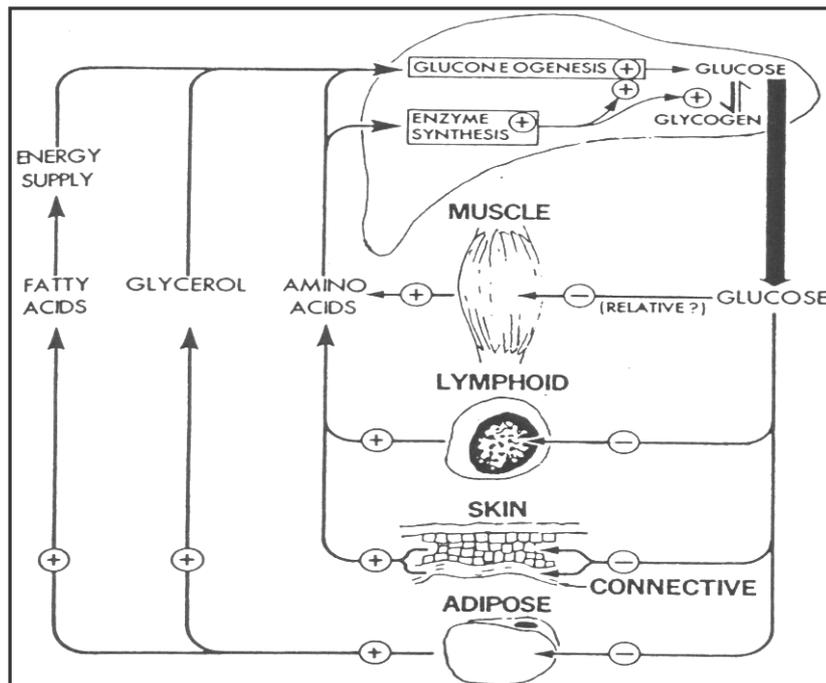
Le complexe GR-cortisol est également capable, en association avec AP-1, d'exercer des interactions protéines-protéines permettant des effets plus rapides que ceux induits par les modifications transcriptionnelles.

### *Effets sur le métabolisme du glucose*

Les GC exercent leurs effets principaux sur le métabolisme du glucose (figure n°4) :

- (i) Ils produisent dans les tissus périphériques (adipocytes, tissus conjonctifs, lymphatique, musculaire et osseux) des substrats glucoformateurs (acides aminés, glycérol - issu de la dégradation des acides gras,
- (ii) Ils activent les enzymes clés de la néoglucogenèse (glucose-6-phosphatase et phospho-énol-pyruvate-carboxy-kinase),
- (iii) Le glucose ainsi produit pourra être utilisé de manière privilégiée par certains tissus glucides dépendants comme le cerveau, alors qu'il va inhiber la captation cellulaire du glucose par d'autres tissus en s'opposant à l'action de l'insuline. Ces tissus pourront utiliser d'autres substrats énergétiques comme les corps cétoniques ou le lactate.
- (iv) Ils préparent l'organisme à s'adapter à des stress ultérieurs en augmentant le stockage hépatique du glucose par l'activation de la glycogène synthase.

**Figure n°5 : Régulation du métabolisme énergétique par les Glucocorticoïdes**  
(D'après Baxter JD, Rousseau GG. Glucocorticoid hormone action: an overview. In: Baxter JD, Rousseau GG, eds. Glucocorticoid Hormone Action. New York: Springer-Verlag, 1979: 1-24.)



***Effets sur le métabolisme lipidique***

L'action des GC sur le métabolisme des lipides est plus contrastée et contestée. Elle dépend de l'expression de la triglycéride lipase et de la  $\beta$ -HSD1 dans les adipocytes, notamment dans la graisse viscérale (145). Elle dépend également de la demande métabolique de l'organisme. Ainsi, dans les situations physiologiques où l'insulinémie est basse [jeun, effort musculaire (146)], ils exercent un effet lipolytique en potentialisant l'action des autres hormones lipolytiques (catécholamines, GH, glucagon). Dans les situations où l'insulinémie est élevée (post prandiale), ils exerceraient plutôt un effet de stockage lipidique (147).

***Effets minéralocorticoïdes***

Le cortisol, en se liant aux MR, exerce une action minéralocorticoïde moins puissante que celle de l'aldostérone (126). Il en résulte une tendance à l'expansion de la volémie et à une diminution du pool potassique. Ainsi, l'administration prolongée de GC peut entraîner une hypertension artérielle et une hypokaliémie responsable de troubles sévères du rythme cardiaque.

***Autres effets biologiques :***

La plupart de ces effets permettent à l'organisme de répondre et de s'adapter au stress, mais aussi de lutter contre les effets délétères de la réponse à un stress (21). Ainsi, en plus des effets immunosuppresseurs et anti-inflammatoires, le cortisol augmente le débit de filtration glomérulaire et la clairance de l'eau libre. Il potentialise également l'action des catécholamines et de l'angiotensine sur la musculature vasculaire lisse (126).

Ils exercent une diminution sur la fonction ostéoblastique, augmentant l'apoptose des ostéoblastes. Sur le plan biologique cela se traduit par une diminution de la concentration plasmatique de l'ostéocalcine (148).

**3.6 Exploration fonctionnelle de l'axe corticotrope**

L'exploration de la fonction corticotrope nécessite le dosage des hormones et/ou de leurs métabolites au repos, éventuellement complété par des épreuves pharmacologiques de freination ou de stimulation. Ces tests sont utilisés en routine clinique pour objectiver un dysfonctionnement endocrinien.

L'évaluation systématique de la fonction surrénalienne du sportif de haut niveau a été récemment appliquée par certaines fédérations sportives dans le cadre du suivi réglementaire des sportifs de haut niveau<sup>23</sup>. L'utilisation fréquente des GC chez les compétiteurs (voir chapitre 2) justifiait cette évaluation.

---

<sup>23</sup> Cf. note 1

### 3.6.1 Conditions pré-analytiques

La validité de la mesure biologique est essentielle pour interpréter les résultats. Elle dépend d'abord des conditions dans lesquelles les prélèvements ont été réalisés. Ces conditions générales qui sont répertoriées dans le guide de bonne exécution des analyses biologiques, nécessitent des précautions durant la phase initiale du prélèvement, de son conditionnement (centrifugation, aliquotage, conservation, transport), et à la phase analytique (calibration des automates, constitutions des normes, conservation des réactifs).

Certaines de ces conditions sont plus spécifiques au sportif de haut niveau. Elles doivent être connues car elles peuvent influencer les valeurs des paramètres hormonaux, notamment pour l'axe corticotrope. Ce sont surtout la proximité d'un effort intense (voir chapitre 6), le statut nutritionnel précédent le prélèvement (149) et la notion d'un traitement récent notamment par GC.

Ce dernier renseignement est maintenant plus facile à obtenir bien que les GC soient sur la liste des produits interdits en compétition. En effet, le code mondial antidopage autorise leur administration locale (transdermiques, inhalées, oculaires ou par infiltrations) sous réserve que leur prescription ait fait l'objet d'une demande d'autorisation d'utilisation thérapeutique abrégée.

### 3.6.2 Explorations basales

#### 3.6.2.1 Cortisol

L'évaluation de la fonction surrénalienne au repos repose essentiellement sur le dosage du cortisol. Les milieux biologiques utilisés sont le plasma, l'urine ou la salive. Plusieurs méthodes de dosage sont utilisées :

- Radioimmunologiques par compétition ou radioimmunoassay (RIA)
- La chromatographie liquide en haute performance (HPLC) permet de séparer le cortisol des autres stéroïdes et des GC endogènes. Le dosage est réalisé par fluorométrie ou spectrométrie de masse.
- Immuno-dosages n'utilisant pas un traceur radioactif, mais des méthodes de révélation du cortisol par fluorescence ou luminescence, mais offrant la possibilité d'être automatisés.

Les valeurs du cortisol obtenues varient en fonction de la méthode et de la trousse de dosage employées (150, 151). La technique de dosage par HPLC couplée à la spectrométrie de masse reste la méthode de référence car elle permet d'éviter de surestimer la mesure du cortisol plasmatique en les distinguant des androgènes, des GC surrénaliens mineurs et de leurs précurseurs (cortisone, 11  $\beta$  déoxycortisol, 17  $\alpha$  hydroxy-progesterone) ainsi que des GC de

synthèse (126). Cependant sa réalisation lourde limite son emploi en routine. Nye et al. (151) ont montré que la concentration plasmatique de cortisol était surestimée de 35% lorsqu'elle était mesurée par immunofluorescence, par rapport à la valeur obtenue par HPLC. En pratique et en routine de laboratoire, la technique de dosage en RIA est actuellement considérée comme la méthode de choix. La sensibilité et la spécificité va alors dépendre de la qualité de l'anticorps utilisé, notamment dans les réactions croisées avec les autres stéroïdes.

#### **Cortisol plasmatique :**

Les dosages employés mesurent le cortisol plasmatique total. La fraction libre plasmatique qui reflète la fraction biologiquement active est difficilement réalisable techniquement et financièrement. Il est possible d'estimer la fraction biodisponible plasmatique du cortisol en dosant la concentration de la CBG (124), mais ce dosage n'est pas disponible en routine. Les concentrations de cortisol plasmatique varient selon un rythme nyctéméral. Elles sont maximales le matin au réveil (275 à 550 nmol/L) pour se situer entre 85 et 275 nmol/L vers 16 heures.

#### **Cortisol salivaire :**

La concentration salivaire du cortisol reflète sa fraction libre car cette hormone diffuse librement dans la salive (152). Cette concentration est bien corrélée à celle du cortisol libre plasmatique (153), bien qu'elle lui soit inférieure de 30% en raison de l'oxydation du cortisol par la 11  $\beta$  HSD2 qui est présente dans les glandes salivaires (154). La simplicité du recueil salivaire en fait un dosage d'élection en ambulatoire, notamment chez le sportif. Cependant, son utilisation en routine pour des grandes cohortes est limitée car ce dosage n'est pas automatisable.

#### **Cortisol urinaire :**

Environ 1% du cortisol est excrété dans les urines sans avoir été métabolisé (124). Le dosage du cortisol libre dans les urines de 24 heures (CLU) est un indicateur de la concentration plasmatique intégrée de cortisol libre. Sa valeur sera d'autant plus élevée que les concentrations plasmatiques de cortisol seront supérieures à 690 nmol/L, valeur à partir de laquelle la CBG est saturée (124). Les valeurs normales du CLU sont de 55 à 250 nmol/24 heures (124). Elles sont normales chez le sportif lorsque le recueil est effectué lors d'une journée de repos (44).

En pratique ce dosage est peu fiable chez le sportif de haut niveau en ambulatoire dans le cadre d'un suivi médical systématique. En effet, l'absence de contrôle des conditions de recueil des urines limite l'utilisation de ce dosage chez des sujets qui risquent d'assimiler ce recueil à un contrôle antidopage.

### 3.6.2.2 Autres paramètres :

Le dosage de l'ACTH n'est habituellement utilisé en première intention dans l'appréciation de la fonction surrénalienne au repos. Il peut être utilisé pour apprécier la réponse hypophysaire dans le contexte d'exploration dynamique de la fonction surrénalienne (Cf. § 3.6.3).

Certains auteurs (155, 156) proposent d'associer le dosage plasmatique du sulfate de déhydroépiandrostérone (S-DHEA) à celui du cortisol pour évaluer la fonction surrénalienne à l'état basal. En effet, le DHEA qui est un précurseur des androgènes gonadiques (testostérone, œstrogènes) est essentiellement sécrété par la zone réticulée de la corticosurrénale. Avant d'être transformé par les gonades en androgènes, il circule dans le plasma sous forme sulfatée. Ainsi, une valeur normale de S-DHEA ajustée en fonction de l'âge et du sexe témoignerait d'une fonction corticotrope normale si elle est associée à une valeur du cortisol plasmatique de base normale (156).

### 3.6.3 Explorations dynamiques

Les analyses de la sécrétion basale de cortisol peuvent se situer dans la zone de normalité alors même que la surrénale est incapable de répondre à un stress en accroissant la production de cortisol. L'objectif des tests dynamiques est donc de confirmer ou d'infirmer une insuffisance surrénalienne.

#### 3.6.3.1 Tests à la recherche d'une insuffisance surrénalienne

Les principaux tests utilisés sont décrits dans le tableau IV. Les tests d'hypoglycémie insulinique et à la métopyrone®, ce dernier n'étant pratiquement plus réalisé en pratique courante, sont des tests de référence (157-159). Une réponse normale à ces tests exclut une insuffisance surrénalienne. Etant donné qu'ils peuvent être mal tolérés, voire entraîner des complications sévères chez les sujets fragilisés, ils nécessitent une surveillance médicale permanente et ne peuvent être réalisés en ambulatoire (158). Pour éviter ces inconvénients, le test court au Synacthène® à 250 µg est plus utilisé (159). Cependant l'efficacité de ce test est contestée dans plusieurs études car il existe des discordances avec le test d'hypoglycémie insulinique pouvant aller jusqu'à 50% des observations (160). Il existe en effet un risque de classer des sujets comme normaux alors qu'ils sont réellement insuffisants surrénaliens. Il est également reproché à ce test de n'explorer que la réponse surrénalienne et d'utiliser des doses supra-physiologiques d'ACTH. C'est pourquoi Dickstein et col. (161) ont proposé de réaliser une stimulation surrénalienne à la dose de 1 µg. Ce test présente l'avantage d'utiliser des doses proches de la réponse hypophysaire physiologique en cas de stress (161). Bien que cela

reste controversé (157), il semble que le test à 1 µg soit mieux corrélé que celui à 250 µg avec le test d'hypoglycémie insulinique (161-165).

En pratique et en première intention, nous recommandons l'utilisation du test à 1 µg pour l'exploration de la fonction surrénalienne du sportif.

La validité des critères de jugement reste cependant un problème majeur dans l'interprétation des résultats (150) surtout lorsque les valeurs sont proches du « cut off ». En effet, dans l'ensemble des publications les valeurs seuils sont présentées en valeur absolue et pour un kit de dosage donné. Clark et al. (150) ont montré que les pics des valeurs de cortisol pouvaient varier de 25% selon le kit de dosage utilisé. Il serait préférable d'exprimer les valeurs seuil en moyenne ± déviation standard en référence aux valeurs obtenues à l'état basal, et ce, pour un kit donné.

**Tableau IV : Principaux tests d'évaluation dynamique de la fonction surrénalienne**

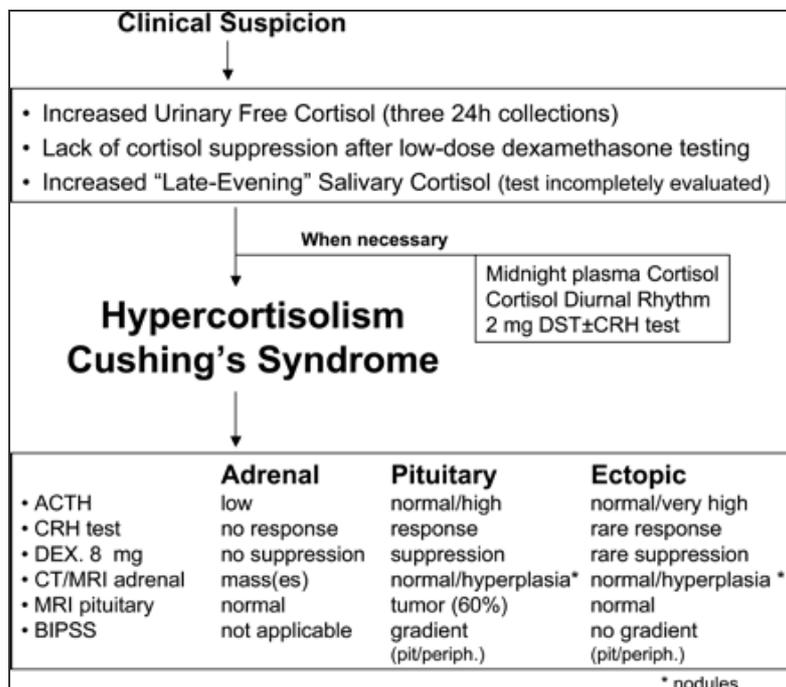
	Réalisation	Principe	Critères de jugement	Critères de normalité
Administration de Synacthène®	Injection IV de 250 µg ou 1 µg le matin à jeun	Stimulation de la réponse surrénalienne	Cortisolémie pic ou 30 minutes après l'injection	Cortisol > 550 à 600 nmol/L
Test à la métopyrone®	Administration orale de 30mg/kg de métopyrone® à minuit	Stimulation de la réponse hypothalamique en réponse au blocage de la sécrétion de cortisol (inhibition du cytochrome P450 <sub>C11</sub> )	Dosage plasmatique du 11 DOC et cortisol ± ACTH à 8 heures	11 DOC > 210 nmol/L Cortisol effondré
Test d'hypoglycémie insulinique	Injection IV de 0.1 à 0.15 UI d'insuline / kg le matin à jeun	Stimulation de l'axe HHS par hypoglycémie	Pic de cortisol et ACTH plasmatique Glycémie	Cortisol > 500 à 550 nmol/L. Test validité si nadir glycémique ≤ 2.2 mmol/L ou < 50% de la valeur pré test
Test au CRF	Injection IV de CRF 1µg/kg le matin à jeun	Stimulation de la réponse hypophysaire et surrénalienne	Pic de cortisol et ACTH plasmatique à 30 minutes	Cortisol > 450 nmol/L

### 3.6.3.2 Explorations des hypercorticismes

La maladie de Cushing (voir infra) est rare mais provoque des complications sévères si son diagnostic est retardé. Le problème principal consiste à différencier cette affection d'une pseudo maladie de Cushing ou d'une situation biologique pour laquelle est constaté une

élévation du cortisol plasmatique (122, 166). Ces explorations sont habituellement réalisées en milieu endocrinologique chez des patients pour lesquels un hypercorticisme clinique et/ou biologique est suspecté.

Figure n° 6: Consensus : Arbre diagnostic devant une suspicion d'hypercorticisme d'après (166)



Un arbre diagnostique complexe est proposé (Cf. figure n° 5), comportant une série d'investigations complémentaires en deux temps (122, 166). Seul le premier temps qui consiste à éliminer une maladie de Cushing, concernera en routine les investigations du sportif de haut niveau qui, dans la plupart des cas, présente une élévation asymptomatique du cortisol plasmatique. Le deuxième temps qui cherche à individualiser une sécrétion tumorale ne sera pas développé dans ce travail.

Outre le dosage du CLU ainsi que l'analyse du rythme circadien du cortisol, le premier temps exploratoire consiste en un test de freinage simple à la dexaméthasone (DXM). Le dosage du cortisol salivaire à minuit serait particulièrement intéressant car non invasif et bien corrélé au CLU (167). La DXM est un GC de synthèse dont l'activité frénatrice est 40 fois supérieure à celle du cortisol. Son administration entraîne la suppression de la sécrétion hypophysaire d'ACTH et, par voie de conséquence, la diminution du cortisol plasmatique. Il s'agit d'administrer par voie orale à minuit 1 mg de DXM (ou 0,5 mg toutes les 6 heures pendant 48 heures). Le dosage du cortisol plasmatique est réalisé le lendemain matin à 8 heures.

La fonction surrénalienne est considérée comme normale si le cortisol plasmatique est inférieur à 140 nmol/L soit environ 50% de la valeur basale (100 à 200 nmol/L selon les kits de dosage) (122). Cependant, l'absence de réponse à la DXM peut être due à une malabsorption (ou une non-absorption) de la DXM ainsi qu'à la diminution de sa demi-vie plasmatique provoquée par des médicaments inducteurs enzymatiques (122). Le test à la DXM peut éventuellement être suivi d'un test de stimulation de l'axe corticotrope par le CRF (168), voire d'une hypoglycémie insulinique qui permettrait une meilleure discrimination entre maladie de Cushing et les situations d'hypercortisolisme non stimulable (122, 126). En cas de doute persistant, un test de freination fort à la DXM (8 mg sur 2 jours) est proposé.

### 3.6.4 Principales caractéristiques de la maladie de Cushing

Il s'agit d'une sécrétion prolongée et inappropriée de cortisol caractérisée par un taux anormalement élevé de cortisol libre circulant, la perte du rétrocontrôle hypothalamo-hypophysaire et du rythme circadien de la sécrétion du cortisol (122). Son incidence est faible, 5 à 10 patients pour 1 000 000 (126).

Son étiologie principale consiste en la sécrétion excessive d'ACTH par une tumeur bénigne hypophysaire ou, plus rarement de la sécrétion autonome de cortisol par une tumeur corticosurrénalienne ou une tumeur ectopique à ACTH (123).

Son diagnostic repose (Cf. figure n°6) sur la mise en évidence de la perte du rétrocontrôle hypothalamo-hypophysaire par l'absence de freination de la production de cortisol et/ou d'ACTH. Le diagnostic étiologique est basé sur l'imagerie neuroradiologique (adénome hypophysaire) et ou/viscérale (tumeur corticosurrénalienne). La mise en évidence d'une sécrétion localisée d'ACTH ou de cortisol par cathétérisme du sinus caverneux est discutée.

Le diagnostic différentiel consiste à éliminer les situations de découverte d'un cortisol plasmatique élevé :

- Les syndromes de pseudo-Cushing qui peuvent avoir des présentations cliniques similaires, notamment les syndromes dépressifs (169) ou de dépendance alcoolique (170),
- Dans les situations d'hyperoestrogénie par augmentation de la CBG (grossesse, pilule œstroprogestative ou d'utilisation de SERM),
- Les restrictions caloriques sévères chroniques ou aiguës (80, 171),
- L'administration exogène de GC croisant avec l'anticorps anti-cortisol du kit de dosage utilisé,
- Les rares syndromes de résistance au GC soit par mutation des GR ou de la  $\beta$  HSD1 qui se manifeste par une hypertension artérielle et/ou une faiblesse musculaire (145).

**Tableau V :Principaux signes cliniques de la maladie de Cushing non liés aux manifestations du volume tumoral d'après (122)**

Troubles neuropsychiques	Dépression, labilité émotionnelle, dysphories Diminution de la libido
Anomalies cardiovasculaires	Développement de lésions athéromateuses Hypertension artérielle
Anomalies cutanées	Mélanodermie, Peau fragile, Acné, hirsutisme
Modifications de la composition corporelle	Obésité ou surcharge pondérale centripète Répartition facio-tronculaire des graisses sous-cutanées
Modifications endocriniennes	Oligoaménorrhée Intolérance au glucose, résistance à l'insuline voire diabète
Altérations de l'appareil locomoteur	Faiblesse musculaire proximale Ralentissement de la croissance chez l'enfant Ostéoporose Ostéonécroses aseptiques
Effets immunosuppresseurs	Sensibilité accrue aux infections
Anomalies métaboliques	Hypertriglycémie, Hypokaliémie

L'ensemble des symptômes montre les effets délétères de la production excessive de GC. Ces complications sont rencontrées au cours de l'administration chronique de GC pour des doses dépassant 7,5 milligramme/24 heures de prednisolone (172) avec un risque supplémentaire d'insuffisance surrénalienne aiguë en cas d'interruption du traitement, d'infection sévère ou d'intervention chirurgicale (128). Cependant, les syndromes de Cushing iatrogènes se rencontrent également lors de l'administration locale et prolongée de GC.

Etant donné l'installation généralement progressive des troubles, les formes débutantes sont peu spécifiques et peuvent être confondues avec un syndrome de surentraînement chez le sportif notamment en raison de la diminution de la performance (atteinte musculaire) et des troubles neuropsychiques qui peuvent être présents (12).

La toxicité musculaire des GC limite probablement leur utilisation prolongée chez le sportif. Au regard des complications exposées dans le tableau ci-dessus, il est logique de penser que leur administration répétée peut entraîner une ostéoporose, des troubles du métabolisme glucidique ainsi que l'installation d'une pharmacodépendance.

### 3.6.5 Insuffisance surrénalienne

L'insuffisance surrénalienne est une maladie chronique d'évolution lente, souvent fruste, dont le risque principal est la survenue d'une décompensation aiguë pouvant menacer le pronostic vital à l'occasion d'un phénomène intercurrent (infection, intervention chirurgicale ...).

Deux grands types d'étiologie sont distinctes selon le niveau d'atteinte (126) :

- Les insuffisances surrénaliennes secondaires sont caractérisées par un déficit de sécrétion d'ACTH le plus souvent d'origine tumorale ou post thérapeutique et pour lesquelles la fonction minéralocorticoïde est conservée. L'administration exogène de GC en altérant la sécrétion hypophysaire d'ACTH est, de loin, la cause la plus fréquente d'insuffisance surrénalienne.
- Les insuffisances surrénaliennes primaires par destruction du parenchyme surrénalien sont rares et caractérisées par un déficit minéralo et glucocorticoïde dont les causes sont principalement auto-immunes ou infectieuses. A part, les déficits enzymatiques congénitaux qui sont diagnostiqués chez le nourrisson ou dans la petite enfance.

Les symptômes cliniques traduisent l'existence d'un déficit gluco et/ou minéralocorticoïde. Les manifestations neuropsychiques (dépression, asthénie), l'anorexie et l'intolérance à l'effort (malaise orthostatiques, hypoglycémie), sont souvent au premier plan et, comme dans la maladie de Cushing, peuvent également évoquer un surentraînement chez un sportif. Ce diagnostic devra être systématiquement évoqué chez un sportif ayant bénéficié d'une corticothérapie (le problème diagnostique sera évoqué dans la deuxième partie).

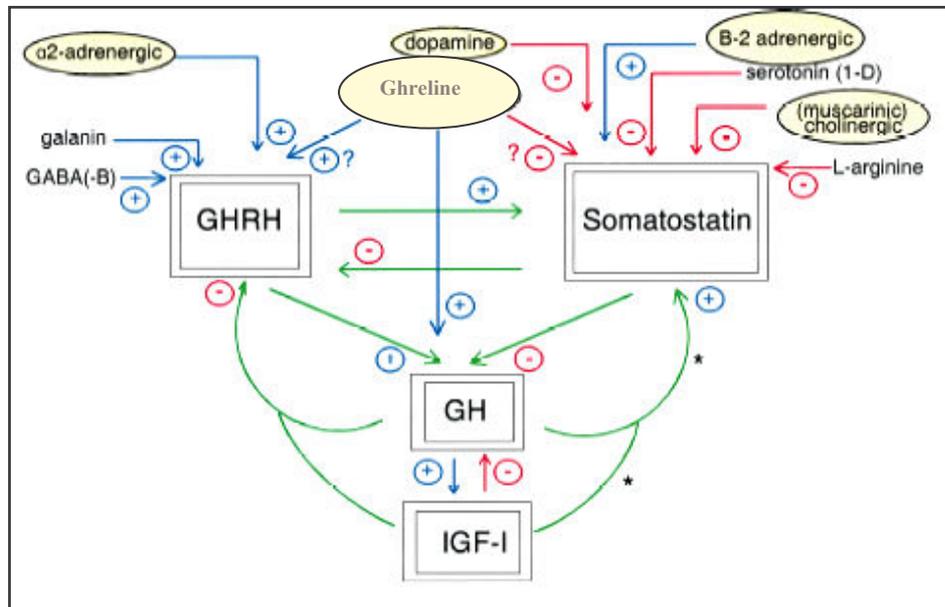
#### 4 Chapitre IV : Physiologie de l'axe Somatotrope

L'hormone de croissance (GH) est le principal effecteur de l'axe somatotrope. Comme le cortisol, elle peut être produite en réponse à un stress aigu ou chronique. Elle exerce ces effets sur les tissus cibles de manière ubiquitaire directement ou par l'intermédiaire de l'*Insuline-like Growth Factor I* (IGF I) en stimulant sa production hépatique (173).

##### 4.1 Principales régulations de la sécrétion de GH

La GH est une hormone peptidique de 191 acides aminés sécrétée de manière pulsatile par les cellules chromaffines de l'hypophyse antérieure. Il existe plusieurs isoformes de GH, la principale ayant un poids moléculaire de 22 kilo Dalton (kDa) et la seconde ayant un poids moléculaire de 20 kDa qui représentent respectivement 90 et 10 % de la GH circulante. Ces deux formes sont actives biologiquement (174). La GH circule dans le plasma liée à des protéines porteuses spécifiques (GHP) dont la principale est une protéine de haute affinité correspondant au domaine extra-membranaire du GHR (175).

Figure n°7 : Régulation neuroendocrinienne de la sécrétion de GH adaptée d'après (176)



Comme cela est présenté dans la figure n°7, la régulation de l'axe somatotrope est complexe et comprend :

- Une boucle ouverte neuroendocrinienne contrôlée de manière complexe par des neuropeptides hypothalamiques, les neuromédiateurs et les autres axes endocriniens.
- Une boucle fermée endocrinienne inhibitrice par rétrocontrôle.

#### 4.1.1 Régulation hypothalamique

La régulation neuroendocrinienne est principalement assurée par deux peptides hypothalamiques : le GHRH et la somatostatine (SRIF) (176). Le GHRH est synthétisé par les neurones du noyau ventromédial de l'hypothalamus et stimule la synthèse et la sécrétion de GH, alors que le SRIF inhibe seulement la sécrétion sans affecter la biosynthèse, s'opposant ainsi aux effets du GHRH (174).

L'action de ces neuropeptides est principalement régulée par les systèmes monoaminergiques et cholinergiques. La clonidine ( $\alpha_2$  agoniste adrénergique) augmente directement la production de GHRH. L'acétylcholine (ACH) semble jouer un rôle essentiel dans l'inhibition du tonus somatostatinergerique. En effet, plusieurs études ont montré que l'administration d'agonistes cholinergiques (pyridostigmine ou néostigmine) augmentait la sécrétion de GH, alors que celle d'antagonistes (atropine) la bloquait (177). Le tonus somatostatinergerique est également augmenté par les  $\beta_2$  agonistes adrénergiques et la sérotonine (176).

D'autres [GH related peptides (GHRP)], dont un peptide synthétisé par les cellules de la muqueuse gastrique (la Ghreline) qui a été récemment individualisé (178), stimulent également la sécrétion de GH. La ghreline agit par l'intermédiaire d'un récepteur spécifique de manière synergique et indépendante du GHRH, soit directement au niveau hypothalamique, soit indirectement au niveau hypophysaire (174).

Plusieurs facteurs régulent la sécrétion de GH :

- La glycémie, l'hypoglycémie augmentant la sécrétion de GHRH par voie  $\alpha$  adrénergique,
- Certains acides aminés (arginine, leucine, ornithine) qui augmentent la sécrétion de GH en inhibant le SRIF,
- La phase profonde du sommeil qui représente une proportion importante de la GH sécrétée sur le nycthémère,
- Les conditions stressantes, comme pour l'axe HHS – dont l'effort musculaire - augmentent également la sécrétion de GH,
- Le jeûne prolongé qui augmente la fréquence et l'amplitude des pics de sécrétion de GH.

#### 4.1.2 Régulation par rétrocontrôle négatif :

La GH circulante et l'IGF1 exercent un rétrocontrôle inhibiteur au niveau hypothalamique en augmentant vraisemblablement le tonus somatostatinergerique. En effet, l'administration aiguë

parentérale de GH inhibe la réponse hypophysaire provoquée par le GHRH (179). Cette inhibition est levée par l'administration de pyridostigmine (176).

Les mécanismes par lesquels IGF1 exerce ses effets inhibiteurs sur la sécrétion de GH aux niveaux hypothalamiques et/ou hypophysaires ne sont pas clairement élucidés (176).

#### **4.1.3 Autres facteurs régulant la sécrétion de GH au niveau hypothalamique**

##### **4.1.3.1 Substrats énergétiques et hormones**

Les effets de la GH sur le contrôle de la croissance sont bien connus (180). Les observations chez les sujet déficitaires en GH ont également révélé que l'axe somatotrope était aussi impliqué dans la régulation de la composition corporelle (181-183), de la masse musculaire (184), du métabolisme osseux (185), et de la fonction cardiaque (186). Le rôle de la GH dans le contrôle du métabolisme énergétique est donc important. Il est donc logique que sa sécrétion hypothalamo-hypophysaire soit régulée par des substrats énergétiques et des hormones.

##### **Glycémie**

###### ***Hypoglycémie :***

L'hypoglycémie est un stimulant majeur de la sécrétion de GH dont le principe est utilisé, comme pour la fonction corticotrope, pour l'évaluation dynamique la fonction somatotrope (test d'hypoglycémie insulinique) (174). Le mécanisme par lequel l'hypoglycémie augmente la sécrétion de GH s'effectue vraisemblablement via la stimulation de GHRH par la voie alpha adrénergique.

###### ***Hyperglycémie :***

L'augmentation de la glycémie secondaire à l'absorption orale de glucose entraîne une variation biphasique de la sécrétion de GH. La concentration plasmatique de GH diminue au cours des 3 premières heures qui suivent l'absorption de glucose, puis augmente tardivement dans un délai de 3 à 5 heures (176). La diminution initiale de la sécrétion de GH serait liée à une augmentation du tonus somatostatinergique puisque la réponse hypophysaire à une administration de GHRH est bloquée par l'hyperglycémie (187) et levée par l'administration de pyridostigmine (188). L'augmentation tardive de la sécrétion de GH est la conséquence de la diminution de la glycémie provoquée par l'insulinémie réactionnelle au pic d'hyperglycémie.

##### **Acides aminés :**

Les propriétés sécrétagogues de la L-arginine sont bien connues et utilisées dans l'exploration fonctionnelles de l'axe somatotrope (174). Cet acide aminé essentiel agirait essentiellement en inhibant le tonus somatostatinergique (176). En effet, chez les sujets déficitaires en hormone de croissance par insuffisance de GHRH, la sécrétion de GH n'est pas modifiée par l'administration de L-arginine (189). En plus, l'administration concomitante de pyridostigmine, agoniste cholinergique, n'a pas d'effet synergique sur la réponse hypophysaire (189). L'arginine étant le substrat principal de la NO-synthase (NOS) (190), le rôle du monoxyde d'azote dans la stimulation de la réponse à la GH a été évoqué (191). Cependant les études pharmacologiques chez l'homme - administration d'un inhibiteur de la NOS (192) ou d'un producteur de NO (193) - n'ont pas mis en évidence d'altération de la réponse hypophysaire à l'hypoglycémie insulinaire.

D'autres acides aminés (leucine, ornithine) sont également capables de stimuler la sécrétion de GH s'ils sont administrés par voie veineuse. Ainsi, le test à l'ornithine est largement utilisé chez l'enfant dans l'exploration fonctionnelle des retards staturaux.

#### **Concentration plasmatique en acides gras libres (AGL):**

Les AGL régulent la sécrétion de GH ; les concentrations basses la stimulent et les concentrations élevées la répriment. Les AGL agiraient en augmentant le tonus somatostatinergique (194-196). En effet, l'administration de médicaments bloquant la libération dans la circulation d'AGL par les adipocytes (Acipimox), entraîne une augmentation de la sécrétion basale de GH et potentialise la réponse hypophysaire provoquée au GHRH (195). Cette réponse est également augmentée après l'administration préalable de pyridostigmine suggérant un mécanisme cholinergique (195, 197).

#### **Glucocorticoïdes :**

La normalité de la fonction corticotrope semble essentielle au fonctionnement de l'axe somatotrope (176). En effet, la réponse sécrétoire de la GH à un test de stimulation par hypoglycémie insulinaire ou par L-arginine, qui est altérée chez les insuffisants surrénaliens, est restaurée après substitution en GC (198).

Les effets de l'administration aiguë de GC sont contrastés. L'administration d'acétate de cortisone à dose pharmacologique entraîne une diminution de la sécrétion de la GH en réponse à l'administration de GHRH, alors que l'administration de DXM entraîne une augmentation transitoire (176). L'augmentation du tonus somatostatinergique semble le mécanisme d'action principale puisque l'administration de pyridostigmine (agoniste

cholinergique) bloque cet effet inhibiteur (199). L'administration prolongée de GC freine la sécrétion de GH (174, 176). Les conséquences cliniques sont le ralentissement de la croissance chez l'enfant traité, les GC s'opposant également à l'action périphérique de la GH (174).

### **Hormones gonadiques sexuelles**

Le rôle agoniste de l'axe gonadotrope sur la sécrétion de GH est illustré par l'augmentation synchrone de leur activité au moment de la puberté (200). Les mécanismes par lesquels les stéroïdes sexuels régulent la sécrétion de GH ne sont pas élucidés. Leur action hypothalamique modulerait la sécrétion de GHRH et le tonus somatostatinergique mais les études animales suggèrent également un effet sur l'activité du récepteur hépatique de la GH (176). Par ailleurs, il existe un dimorphisme sexuel de la régulation de la sécrétion de la GH puisque les concentrations basales et la quantité de GH produite au cours du nyctémère sont plus importantes chez la femme (201).

- **Androgènes :**

Giustina et Veldhuis (176) suggèrent que les androgènes contrôlent le nombre et l'amplitude des pulses de GH sécrétés. Chez le garçon pubère comme chez l'adulte, il existe une corrélation positive et étroite entre le pic et la masse de GH sécrétée, la concentration plasmatique d'IGF1 et la concentration plasmatique de testostérone (202). Fryburg et al. (203) ont montré que la testostérone administrée chez des adultes jeunes dont la sécrétion hypophysaire avait été préalablement bloquée par leuprolide, augmentait de manière dose-dépendante les concentrations de GH et d'IGF1. L'administration de stanozolol (androgène non-aromatisable) n'entraînait pas de modification de la GH ni de la concentration plasmatique d'IGF1.

Ainsi, les androgènes augmenteraient la sécrétion de GH par l'intermédiaire de leur aromatisation en œstrogènes. Le blocage des récepteurs œstrogéniques par le tamoxifène (modulateur sélectif des récepteurs aux œstrogènes) (204) chez le garçon en fin de puberté provoque une diminution de la sécrétion de GH et de la concentration plasmatique d'IGF1, alors que le blocage des récepteurs androgéniques (flutamide) entraîne une augmentation de la sécrétion de GH (205). Ces éléments suggèrent que les œstrogènes et les androgènes agissent de façon opposée et indépendante sur la sécrétion de GH. Les mécanismes par lesquels la testostérone modifie la sécrétion de GH (diminution du SRIF et/ou augmentation du GHRH) sont débattus.

Ces données physiopathologiques présentent deux intérêts chez le sportif : d'une part il est nécessaire d'avoir un axe gonadotrope fonctionnant normalement pour que la sécrétion de

GH soit normale. D'autre part, l'administration de stéroïdes anabolisants à des fins de dopage va entraîner des modifications biologiques différentes selon que le stéroïde soit aromatisable ou non. Ainsi l'administration de testostérone augmente la concentration plasmatique d'IGF1 (206, 207), alors que les androgènes non-aromatisables la modifieront peu ou la diminueront (206).

- **Œstrogènes :**

Plusieurs situations physiologiques et pathologiques suggèrent que les œstrogènes contrôlent la régulation de la sécrétion de GH mais également son action sur son récepteur hépatique (176, 208). Les effets hypothalamiques ou hypophysaires des œstrogènes reposent sur les arguments suivants :

- ✓ Lors de la puberté, il existe une augmentation de la sécrétion de GH d'un facteur 2 à 3. Il existe une corrélation positive entre le taux d'œstradiol et l'amplitude des pics sécrétoires de GH (204, 205, 209),
- ✓ Une activation de l'axe somatotrope a été également mise en évidence après substitution par ethinylestradiol de filles atteintes de maladie de Turner (monosomie X) (210),
- ✓ La sécrétion de GH est plus faible chez les femmes ménopausées (211),
- ✓ Il existe également une régulation physiologique possible au cours du cycle menstruel puisque les concentrations plasmatiques de GH sont 2 fois supérieures en fin de phase folliculaire (212) et sont augmentées par 4 lors de l'induction d'ovulation dans le traitement de troubles de la fertilité (176),
- ✓ La sécrétion basale et l'amplitude des pics de GH sont supérieures chez la femme (201).

L'hypothèse de l'interaction des œstrogènes avec les effets hépatiques de la GH repose sur la diminution des concentrations plasmatiques d'IGF1 observée après l'administration orale d'œstrogènes (substitution hormonale ou contraception orale) (208). En effet, l'absorption de médicaments contenant de l'œstradiol diminue la concentration plasmatique d'IGF1 de 15 à 30% et augmente les concentrations plasmatiques de GHBP, d'IGFBP1 ainsi que la masse de GH sécrétée pendant 24 heures (213-215). Les œstrogènes naturels ou synthétiques administrés par voie orale diminuent également la concentration plasmatique d'ALS quel que soit le statut hormonal des femmes (216). Par contre, l'administration transdermique d'œstrogènes aux doses thérapeutiques ne modifie pas la concentration plasmatique d'IGF1 quelle que soit la molécule administrée (217). Leurs effets sur celle d'IGFBP3 sont inconstants (208).

L'administration de SERM (raloxifène, tamoxifène), qui ont une action œstrogénique agoniste sur le foie, entraîne les mêmes effets que l'administration d'œstrogènes par voie orale chez les

femmes traitées pour cancer du sein (218). Ainsi, l'utilisation de SERM chez la sportive à des fins de dopage pourra s'accompagner d'une diminution de la concentration plasmatique d'IGF1 (219).

Ces effets sont opposés à ceux de la GH et semblent liés à un phénomène de *first pass* hépatique (208) puisque l'administration transdermique permet d'éviter le métabolisme hépatique (220). Il semble également que la concentration plasmatique (ou dans la veine porte) soit un facteurs déterminant de ces effets, puisque l'administration transdermique de doses élevées d'œstrogènes entraîne les mêmes effets que l'administration orale (221).

Ainsi, les œstrogènes induisent une résistance hépatique à la GH, puisque la baisse de la concentration plasmatique d'IGF1 augmente la sécrétion de GH en diminuant le rétrocontrôle inhibiteur hypophysaire et hypothalamique. D'autre part, cet effet s'exerce par inhibition directe des voies de signalisation intracellulaire du GHR. L'inactivation de la transduction du signal du GHR pourrait s'expliquer partiellement par l'augmentation de l'expression des *suppressors of cytokine signaling* (voir plus loin dans ce chapitre), notamment SOCS 2 (222).

**En résumé**, les œstrogènes semblent exercer des effets opposés sur l'axe somatotrope, favorisant la sécrétion hypophysaire de GH et diminuant la concentration plasmatique du complexe ternaire, surtout lorsqu'ils sont administrés par voie orale.

En pratique, l'interprétation de la concentration d'IGF1 devra, chez la sportive sous contraception orale, prendre en compte cet effet.

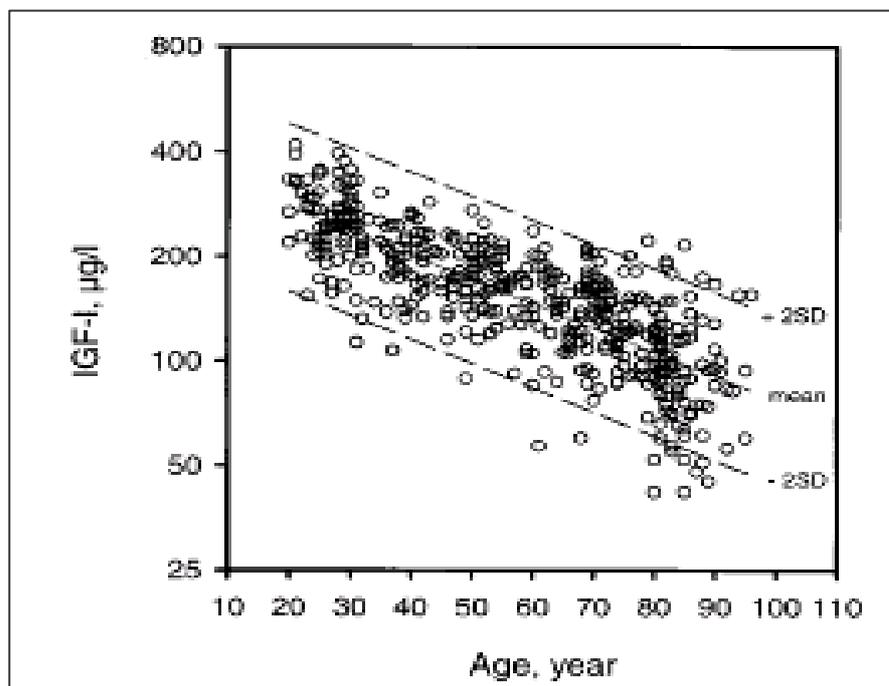
**Hormones thyroïdiennes :** L'altération de la fonction hypophysaire s'accompagne chez l'être humain d'une diminution de l'activité de l'axe somatotrope. L'hypothyroïdie s'accompagne d'une diminution de la sécrétion nocturne de GH, d'une baisse des concentrations plasmatiques d'IGF1 (223) et d'une diminution de la réponse hypophysaire aux stimulations pharmacologiques (hypoglycémie insulinique, L arginine, GHRH) (224). Ces réponses se normalisent après substitution hormonale. Les mécanismes par lesquels l'hypothyroïdie affecte la fonction somatotrope ne sont pas connus.

L'hyperthyroïdie est également associée à une diminution de la production de GH. En effet, la sécrétion de GH (nocturne ou après stimulation pharmacologique) est restaurée après normalisation de la fonction thyroïdienne (225). L'hyperactivité  $\beta$ 2-adrénergique de la thyrotoxicose semble partiellement responsable de ces altérations en augmentant le tonus somatostatinergique puisqu'un traitement préalable avec un  $\beta$ -bloqueur rétablit la normalité de la réponse au GHRH (176).

#### 4.1.3.2 Autres facteurs régulant la sécrétion de GH

**Age :** La quantité de GH sécrétée, lorsqu'elle est rapportée à la surface corporelle, est élevée chez le nouveau-né et pendant la puberté. Elle décline après la puberté pour rester stable chez l'adulte jeune et diminuer chez le sujet âgé (226). Le déficit sécrétoire somatotrope du sujet âgé se rétablit avec l'administration concomitante de L-arginine et de GHRH (227) évoquant un mécanisme hypothalamique associant déficit en GHRH et augmentation du tonus somatostatinergique.

**Figure n° 8 : Evolution de la concentration plasmatique d'IGF1 en fonction de l'âge d'après (228)**



En conséquence, les concentrations plasmatiques d'IGF1, d'IGFBP3 et d'ALS qui sont stimulées par la GH évoluent également en fonction de l'âge (106, 228-230) (Cf. figure n°8 pour IGF1). Elles augmentent progressivement de la naissance jusqu'au début de la puberté puis croissent brutalement pour atteindre un maximum au stade pubertaire III-IV (106, 230). Ces concentrations diminuent rapidement entre 16 et 21 ans puis lentement tout au long de la vie adulte.

Ainsi, chez le sportif de haut niveau dont la tranche d'âge s'étend de l'adolescence jusqu'à 40 ans, l'interprétation des valeurs d'IGF1 doivent s'effectuer en fonction de la tranche d'âge considérée.

**Composition corporelle :** La quantité de GH sécrétée par 24 heures est négativement corrélée avec l'indice de masse corporelle et le pourcentage de masse grasse (231). La

quantité de GH et le nombre de pics sécrétoires de GH sont diminués chez le sujet obèse (Cf. figure n° 9). Pour Clasey *et al.* (232), la quantité de graisse viscérale abdominale serait un élément prédictif négatif de la sécrétion circadienne de GH.

Figure n°9 : Influence de la sécrétion de GH en fonction de l'âge, du statut nutritionnel et de la composition corporelle in (174)

<b>Observation</b>	<b>Young Adult (<math>\mu\text{g}/24\text{ hr}</math>)</b>	<b>Fasting</b>	<b>Obesity</b>	<b>Middle-Age</b>
24-hr secretion	540 $\pm$ 44	2171 $\pm$ 333	77 $\pm$ 20	196 $\pm$ 65
Secretory bursts	12 $\pm$ 1	32 $\pm$ 2	3 $\pm$ 0.5	10 $\pm$ 1
Growth hormone burst	45 $\pm$ 4	64 $\pm$ 9	24 $\pm$ 5	10 $\pm$ 6

\*Deconvolution analysis of growth hormone (GH) secretion in adult males.  
From Thorner MO, Vasee ML, Horvath E, Kovacs K. The anterior pituitary. In Wilson JD, Foster DW (eds). Williams Textbook of Endocrinology. Philadelphia, WB Saunders, 1992, pp 221-310.

Inversement, la production de GH est positivement corrélée avec le pic de  $\text{VO}_2$  max rapporté au poids corporel (226) qui reflète indirectement la masse musculaire impliquée durant l'effort.

**Statut nutritionnel :** La sécrétion de GH est augmentée en cas de jeûne (Cf. figure n° 9) ou de dénutrition prolongée chez l'homme comme chez l'animal (233). Cette augmentation est expliquée par la baisse de la concentration plasmatique de l'IGF1 (qui est physiologiquement responsable du rétrocontrôle hypothalamo-hypophysaire) et reflète la diminution de l'action hépatique de la GH (234).

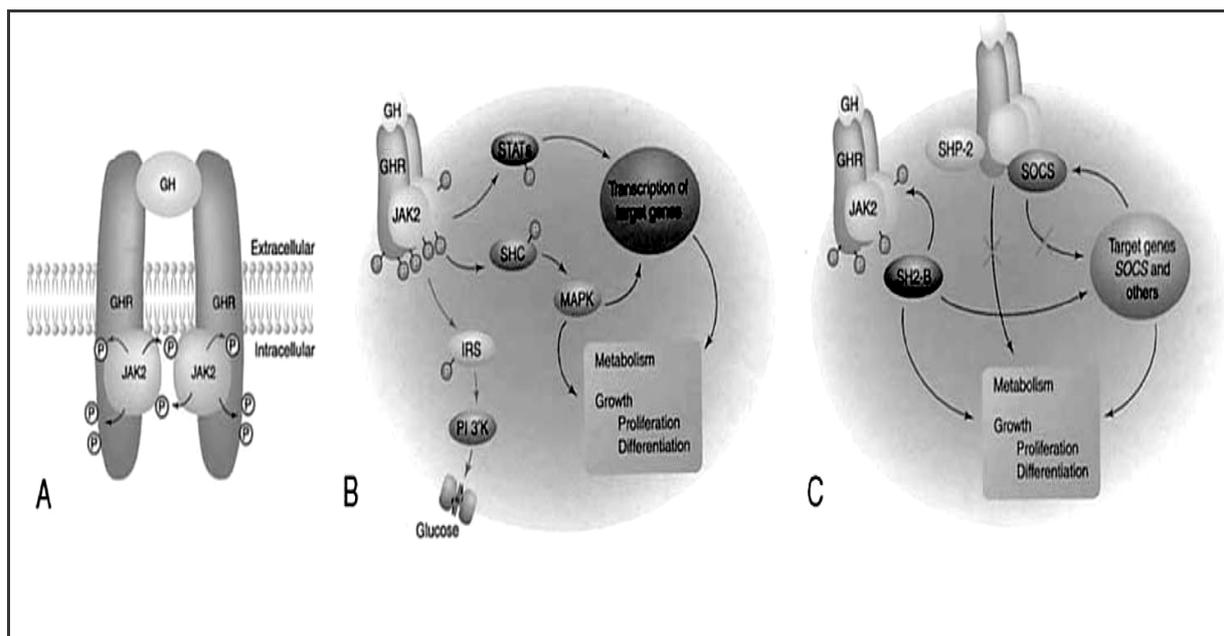
**Sommeil :** 70% de la production quotidienne de GH sont assurés pendant la phase lente du sommeil profond (235). Les pics nocturnes de GH sont plus fréquents et plus amples durant cette phase. Cette augmentation serait provoquée par l'augmentation du tonus dopaminergique qui stimule la sécrétion de GH (176).

**Conditions stressantes :** Qu'elles soient psychologiques, physiques (effort musculaire), vasculaires (choc hypovolémique), métaboliques ou traumatiques, les contraintes imposées à l'organisme sont de puissants stimulateurs de la sécrétion de GH (176).

#### 4.2 Mécanismes d'action de l'hormone de croissance

La GH exerce ses effets sur les tissus cibles en se fixant sur un récepteur spécifique (GHR) appartenant au groupe des récepteurs des cytokines. Cette famille de récepteurs se lie de manière préférentielle à une famille de thyrosine kinases (JAK) par une région riche en proline. Le GHR est composé de 2 sous-unités identiques et se combine à JAK2 (Cf. figure n° 10A). La formation du complexe GHR-JAK2 entraîne – via une thyrosyl-phosphorylation – l'activation de facteurs transcriptionnels cytoplasmiques latents (*Signal Transducer and Activator of Transcription* STATs), mais peuvent également agir par l'intermédiaire de la voie MAP kinase (*Mitogen Activated Protein*) et sur le métabolisme du glucose en activant le complexe IRS (*Insulin Receptor Substrat*) (Cf. figure 8B). Les STATs(5) activés se dimérisent et migrent vers le noyau, entraînant les modifications transcriptionnelles responsables des effets biologiques.

Figure n° 10 : Régulation de la signalisation du GHR in (174)



La régulation du fonctionnement du GHR est principalement sous le contrôle de :

- **Suppressors of cytokine signalling (SOCS) :**

Il existe des mécanismes permettant d'inactiver le GHR pour limiter l'ampleur des réactions biologiques due à une stimulation prolongée de la GH. Parmi ceux-ci, les SOCS (Cf. figure 10C) sont une famille de protéines induites par l'activation du signal JAK/STAT jouent un rôle essentiel (208). Elles sont également activées par certaines cytokines impliquées dans la

réponse inflammatoire (IL1, TNF $\alpha$ , IL6) et expliqueraient la résistance à l'action de la GH et de la diminution de la sécrétion de l'IGF1 dans les états inflammatoires (236).

- **Facteurs nutritionnels :**

Chez l'homme, les états de dénutrition chroniques (marasme, anorexie) s'accompagnent d'une augmentation de la concentration plasmatique de GH et d'une diminution du taux sérique d'IGF1 (237). Ces anomalies suggèrent qu'un déficit calorique provoque une résistance à la GH (234). Des expériences de renutrition après un jeûne prolongé (5 jours) ont montré que pour rétablir la concentration initiale d'IGF1, il faut non seulement des apports énergétiques suffisants, mais aussi une ration protidique adéquate et riches en acides aminés essentiels (238, 239). Le rôle des apports glucidiques est également important dans le maintien de la production hépatique d'IGF1 en réponse à la GH (240).

Les mécanismes moléculaires impliqués dans la diminution de la concentration plasmatique d'IGF1 lors de la restriction calorique sont la diminution du nombre de GHR à la surface des hépatocytes et l'altération de la signalisation post récepteur de la GH (234). Chez les sujets dénutris (241), la diminution de la concentration plasmatique de la GHBP - qui est identique au domaine extracellulaire du GHR (Cf. § 4.1) – reflète la diminution du nombre de GHR. Les expériences effectuées chez l'animal ont mis en évidence que la diminution de la synthèse hépatique d'IGF1 ne pouvait s'expliquer uniquement par la réduction du nombre de GHR (234). En effet, lors d'une restriction calorique sévère, si la diminution des GHR reste la cause la plus importante, il s'y associe également une diminution de la transcription d'IGF1 par diminution de l'insulinémie (242), une déstabilisation de l'ARN d'IGF1 ainsi qu'une diminution de sa « traductibilité ». Par ailleurs, la diminution de la synthèse d'IGFBP3 et d'ALS augmente la clairance métabolique de l'IGF1.

La biodisponibilité des acides aminés, particulièrement celles des acides aminés essentiels, joue également un rôle important et indépendant de l'altération de la production d'insuline (233).

**En pratique :** Chez le sportif, des modifications du fonctionnement du GHR pourraient être induite par la production de cytokines inflammatoires lors d'effort musculaires répétés, la résorption d'un hématome ou la présence d'un foyer infectieux latent. Ils peuvent également être la conséquence d'un déficit calorique provoqué par un amaigrissement plus ou moins associé à des troubles restrictifs du comportement alimentaire (sports à catégorie de poids ou esthétique) ou par des apports nutritionnels inadaptés quantitativement (ou qualitativement) à la dépense énergétique (sports d'endurance).

### 4.3 Insulin-like Growth Factors

Les IGF – IGF1 ou somatomédine C et IGF2 - sont des peptides dont la structure est proche de la pro-insuline. Ils sont impliqués de manière ubiquitaire dans les régulations métaboliques, la croissance staturale et la différenciation cellulaire (104, 106).

La somatomédine C fut découverte grâce à sa capacité à stimuler *in vitro* la sulfatation du cartilage en l'absence de GH (180). Parallèlement, il fut mis en évidence des facteurs sériques ayant des propriétés insuliniques qui persistaient après l'administration d'anticorps anti-insuline (NSILA) (243). Rinderknecht et al. (244) ont montré que la somatomédine C avait une homologie de séquence avec la pro-insuline. Par la suite, il fut démontré que la somatomédine C et IGF1 avaient la même structure (245) et le terme IGF fut définitivement retenu. La production hépatique d'IGF1 assure son action endocrine et est sous la dépendance de la GH (246). Il existe également une production extra-hépatique (ubiquitaire) d'IGF I dont les effets auto ou paracrines sont partiellement sous le contrôle de la GH et de l'insuline (247) et sont responsables de la régulation de la croissance des organes (173).

Le rôle physiologique de l'IGF2 chez l'adulte est mal connu. Il semble jouer un rôle essentiel dans la croissance fœtale (248).

#### 4.3.1 Mode d'action :

Les IGFs exercent leurs effets biologiques en se liant à un récepteur spécifique (104). IGF1 se lie à un récepteur hétérotétramérique de structure proche du récepteur de l'insuline et ayant une activité tyrosine kinase et dont la signalisation utilise les adaptateurs cellulaires du récepteurs à l'insuline (IRS, MAP Kinase, Pi3 kinase).

IGF2 se lie avec une plus grande affinité avec un récepteur composé d'une seule chaîne polypeptidique qui est le même récepteur que le mannose-6-phosphate-cation indépendante (104). La signalisation intracellulaire de ce récepteur n'est pas connue, mais son internalisation augmente sa clairance métabolique.

#### 4.3.2 Rôles métaboliques de l'IGF1.

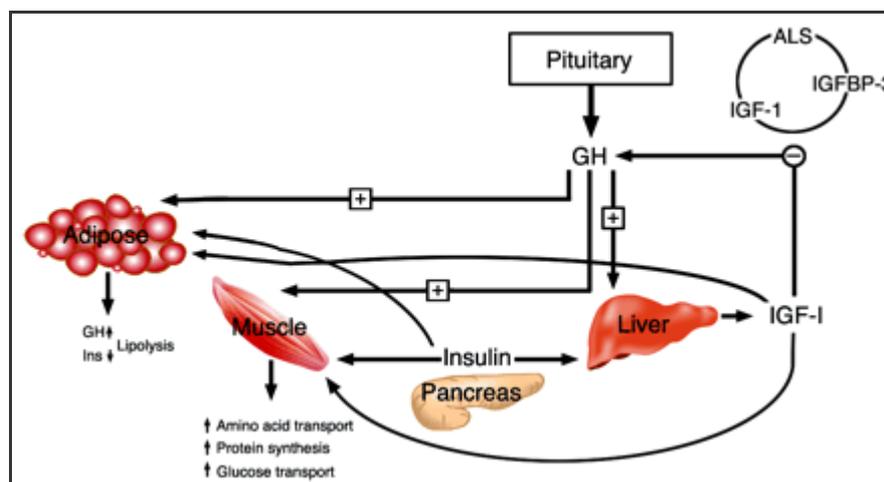
En plus des effets exercés sur la croissance, les expérimentations réalisées *in vitro*, chez l'animal ou chez l'homme démontrent que l'IGF1 exerce un rôle dans le contrôle du métabolisme du glucose, des lipides et des protides (104, 173). Il exerce un effet *Insuline-like* en augmentant l'utilisation et la captation périphérique du glucose (essentiellement musculaire) et la synthèse protidique et le stockage des lipides (249). En effet, l'administration d'IGF1 recombinant chez l'animal (250) ou l'homme (251, 252) entraîne une hypoglycémie dose dépendante (252), même si l'activité hypoglycémiant de l'IGF1

représente moins de 10% de celle de l'insuline (251). Cet effet est dû à une affinité plus faible de l'IGF1 pour le récepteur à l'insuline et parce que sa captation par les IGFBP réduisent sa biodisponibilité.

Hokama et al. (253) ont suggéré que l'augmentation de l'utilisation du glucose par le muscle serait partiellement due à l'accroissement de l'expression membranaire des transporteurs de glucose (GLUT 4). Il persiste cependant une incertitude sur la nature exacte du ou des mécanismes moléculaires mis en jeu, à savoir si cette action est médiatisée par les récepteurs musculaires propres de l'IGF1, ceux de l'insuline ou des récepteurs hybrides (insuline – IGF1) (104, 173). Cet effet serait d'une importance particulière durant les efforts prolongés dans la mesure où la concentration plasmatique d'insuline diminue (146), l'IGF1 pourrait se substituer à celle-ci pour augmenter la pénétration musculaire du glucose, tout en évitant les effets pro-insuliniques sur les autres tissus, notamment l'inhibition de la glycolyse hépatique. Cependant, toute augmentation de la fraction biodisponible d'IGF1 entraîne un risque accru d'hypoglycémie.

Par ailleurs, l'amélioration de l'insulinosensibilité au décours d'un effort musculaire ou d'un entraînement pourrait s'expliquer par l'augmentation de l'action biologique musculaire de l'IGF1 (Cf. figure n° 11).

**Figure n° 11 : Relations entre la GH, l'insuline et l'IGF1 dans la régulation métabolique [d'après (254)]**



L'IGF1 est également impliqué dans la régulation du métabolisme phosphocalcique. Il augmente la réabsorption tubulaire rénale du phosphore et la filtration glomérulaire (255).

### 4.3.3 Transport plasmatique : rôle des protéines de liaison (IGFBP)

Des protéines de liaison ayant une haute affinité pour les IGF sont également produites par les tissus. Six formes circulantes (1 à 6) ont été décrites (104). IGFBP2, 5 et surtout 6 auraient une plus grande affinité pour IGF2 (104). La forme la plus abondante, IGFBP3, a un poids moléculaire de 40 kDa et se lie avec un peptide de 85 kDa (Acid-labile subunit, ALS) pour former un complexe ternaire de poids moléculaire 150 kDa (IGF I ou II - IGFBP3 – ALS) (104, 106). IGFBP3 et ALS sont également sous la dépendance de l'action de la GH.

Le complexe ternaire représente 80 % de l'IGF I circulant, alors que 15% de l'IGF1 plasmatique est simplement lié à une IGFBP (complexe binaire). Seul 1% de l'IGF1 plasmatique est libre (106). La demi-vie plasmatique et la clairance métabolique de l'IGF1 dépendent de sa liaison aux IGFBP (256). Elle est d'environ 12 à 15 heures pour le complexe ternaire, de 30 minutes pour l'association avec une IGFBP contre 10 minutes lorsque l'IGF1 est libre (106).

Le complexe ternaire semble donc servir de réservoir plasmatique car son poids moléculaire élevé (150 kDa) ne lui permet pas de franchir la barrière capillaire. La diminution de la concentration plasmatique d'ALS ou d'IGFBP3 entraîne donc une augmentation de la clairance métabolique des IGF, donc de leur concentration plasmatique.

Les complexes binaires auraient une fonction de transport et de régulation de la distribution des IGF aux cellules cibles, ainsi que la modulation de leurs effets au niveau cellulaire (257).

**Protéolyse des IGFBP :** Dans certaines situations (grossesse, inflammation, jeûne prolongé, effort musculaire) (258-260), il existe des protéases sériques d'origine tissulaire ou sécrétée par les monocytes capables de cliver certaines IGFBP, notamment IGFBP3. Cette protéolyse diminue leur affinité pour l'IGF1 et augmente par voie de conséquence, sa biodisponibilité, ses effets métaboliques et sa clairance métabolique. Ces situations sont responsables de la diminution de la concentration plasmatique d'IGF1.

### 4.3.4 Principales régulations hormonales de la sécrétion des IGF :

La GH augmente la production d'IGFBP3, d'ALS et accessoirement d'IGFBP5 (104). Au niveau hépatique, l'insuline exerce une action synergique à celle de la GH et régule négativement de la synthèse d'IGFBP1 (régulation aiguë). La GH et l'insuline régulent négativement la synthèse d'IGFBP2 (régulation chronique) (234).

Ainsi, l'augmentation de la concentration plasmatique d'IGFBP1 permettent de diminuer la fraction biodisponible de l'IGF1, en particulier dans les situations (jeûne, effort musculaire

prolongé) qui nécessitent une limitation des effets hypoglycémisants de l'IGF1 et de l'utilisation périphérique du glucose par le muscle.

Les effets des GC sur la régulation de la synthèse d'IGFBP1 sont discutés. Alors que les études in vitro montrent un effet positif des GC, les situations cliniques qui s'accompagnent d'une concentration élevée de cortisol montrent une diminution de la concentration plasmatique d'IGFBP1 ou une augmentation (post hypoglycémie insulinique). Pour certains, il est probable que le cortisol n'exerce pas d'effets directs sur la synthèse d'IGFBP1.

#### **4.4 Exploration de la fonction somatotrope**

En dehors des études destinées à améliorer la compréhension des mécanismes physiologiques ou physiopathologiques de l'axe somatotrope, l'exploration de la fonction somatotrope est surtout utilisée dans les situations endocriniennes pathologiques pour mettre en évidence un déficit ou un excès de sécrétion de GH.

Ces investigations reposent essentiellement sur les dosages plasmatiques au repos et après épreuves pharmacodynamiques de stimulation ou freinage de la sécrétion de GH. L'imagerie neuroradiologique complète ces investigations en vérifiant la morphologie de la région péri et supra sellaire et en orientant la thérapeutique (174).

##### **4.4.1 Explorations au repos**

Ce sont, pour la plupart, des immunodosages qui consistent à doser dans le plasma, la GH et les paramètres qui reflètent directement ou indirectement les effets métaboliques de la GH. En effet, la concentration plasmatique d'IGF1, d'IGFBP3 et d'ALS est assurée essentiellement par leur production hépatique stimulée par la GH (173). De façon complémentaire, les marqueurs de la formation et/ou de la dégradation du collagène de type I et III évaluent l'action de la GH (et de l'IGF1) sur le tissu osseux et conjonctif (261, 262).

##### **4.4.1.1 Dosage de la GH**

Les techniques de référence (RIA, IRMA, ELISA) utilisent des anticorps polyclonaux ou monoclonaux. La sensibilité du dosage dépend beaucoup de la qualité des anticorps utilisés.

Les trousse actuellement utilisées permettent de doser la GH plasmatique totale et les principales isoformes (22 kDa et 20 kDa). Si l'intérêt de doser ces isoformes en routine clinique reste à évaluer, celui-ci semblerait pertinent dans le dépistage du détournement de l'usage de la GH pour améliorer les performances (99, 100, 262). Le dosage de la 20 kDa n'est pas disponible en routine.

La mesure isolée de la concentration plasmatique basale de la GH est un mauvais reflet de la fonction de l'axe somatotrope. En effet, la GH étant sécrétée de manière pulsatile et sa demi-vie plasmatique courte (98), il est difficile de relier une valeur basale normale, élevée ou indétectable à une sécrétion physiologique ou pathologique particulière (45). Seule la mesure de la sécrétion de GH intégrée sur un nyctémère semble un excellent reflet de la fonction hypophysaire à condition que celle-ci soit effectuée au repos. Elle est difficilement applicable en routine clinique car elle nécessite des prélèvements espacés de 20 minutes pendant 24 heures. Elle est réservée à l'exploration de retards staturaux de diagnostic difficile.

Il est également possible de doser la GH dans les urines. Cependant, sa signification est débattue car la fraction libre urinaire mesurée ne représente qu'une infime part de la GH sécrétée (environ 0.01%) en raison de son catabolisme et de la réabsorption tubulaire proximale rénale. Elle est cependant utile chez l'adulte dans le diagnostic et le suivi des acromégalies (263).

#### **4.4.1.2 Dosage plasmatique de l'IGF1**

Les techniques utilisées en routine sont des dosages IRMA. Elles dosent l'IGF1 plasmatique total après extraction des IGFBP. Le dosage de la fraction libre plasmatique d'IGF1 qui reflèterait son activité biologique est de réalisation délicate et très discuté.

La concentration plasmatique d'IGF1 permet d'apprécier sa production hépatique stimulée par la GH. Compte tenu de sa demi-vie plasmatique longue – environ 15 heures - lorsque l'IGF1 circule lié à l'IGFBP3 et l'ALS (104, 106) et donc de l'absence de variations circadiennes importantes, sa concentration plasmatique est un marqueur sensible du fonctionnement basal de l'axe hypothalamo-hypophyso-hépatique.

Les concentrations plasmatiques de l'IGF1 fluctuant de manière importante avec l'âge, en particulier dans les périodes péri-pubertaires, la normalité des valeurs doit être appréciée en fonction de celui-ci.

#### **4.4.1.3 Dosage plasmatique de l'IGFBP3**

L'IGFBP3 intacte a un poids moléculaire d'environ 40 kDa (104). Il existe une forme protéolysée d'environ 30 kDa, ayant une affinité réduite pour les IGF. La plupart des dosages IRMA utilisés en routine reconnaissent les deux formes ce qui limite l'interprétation du dosage d'IGFBP3 dans les situations physiologiques et pathologiques où il existe une protéolyse (258, 260). Le dosage par *Western immunoligand Blotting* permet de distinguer ces isoformes. Son intérêt réside essentiellement dans la compréhension des mécanismes d'action des IGF dans certaines situations pathologiques ainsi qu'à l'effort. La concentration

plasmatique d'IGFBP3 reflète, comme pour l'IGF1, sa production hépatique. L'interprétation de ces valeurs doit également tenir compte de l'âge.

#### 4.4.1.4 Dosage plasmatique de l'ALS

L'ALS est un peptide de 88 kDa qui forme, avec IGFBP3 et l'IGF1 un complexe ternaire de 150 kDa. Elle est également sécrétée par le foie sous le contrôle de la GH (104, 264). Sa concentration plasmatique est donc un marqueur indirect de l'action hépatique de la GH et est soumise dans une moindre mesure aux variations de l'âge.

#### 4.4.1.5 Dosage des IGFBP

Le dosage des autres protéines porteuses est peu employé en routine clinique. Il existe des immunodosages qui permettent un dosage plasmatique quantitatif ou une évaluation semi-quantitative par *Western Ligand Immunoblotting*. En pratique clinique, le dosage de l'IGFBP1 et IGFBP2 peut être utile.

La sécrétion d'IGFBP1 et d'IGFBP2 étant négativement régulée respectivement par l'insuline et/ou la GH, le dosage de leur concentration plasmatique peut présenter un intérêt dans la compréhension physiopathologique de concentrations plasmatiques anormales d'IGF1. En effet, lorsqu'elles sont basses, elles peuvent être le reflet d'une sécrétion anormalement élevée de GH avec insuline élevée (104) et inversement être le témoin d'un déficit calorique lorsqu'elles sont élevées (234).

### 4.4.2 Explorations dynamiques

Les tests pharmacologiques de stimulation ou de freinage sont employés pour confirmer (ou éliminer) un déficit de sécrétion en GH ou une sécrétion anormale de GH (acromégalie). Ils peuvent donc être utilisés pour explorer certains sportifs pour lesquels un dysfonctionnement de l'axe somatotrope serait suspecté.

#### 4.4.2.1 Tests de Stimulation

Ils ont pour objectif de vérifier que la réponse hypophysaire à un stress pharmacologique est normale. Ils consistent, entre 15 et 120 minutes après l'administration intraveineuse d'une substance sécrétagogue, à quantifier le pic plasmatique de GH (Cf. tableau VI).

Le test de référence est le test d'hypoglycémie à l'insuline (174, 265). Celui-ci reste cependant délicat à employer en raison de sa mauvaise tolérance clinique et des risques d'accidents cardio-vasculaires chez des sujets à risque. Le test associant arginine et GHRH semble avoir également une sensibilité et une spécificité proches de celle de l'hypoglycémie

insulinique avec une meilleure tolérance (265), bien qu'explorant à la fois la réponse hypothalamique et hypophysaire.

**Tableau VI: Principaux tests de stimulation de la sécrétion de GH chez l'adulte adapté d'après (174)**

Tests	Doses administrées	Valeurs pathologiques de GH (µg/L)
Hypoglycémie insulinique	0.10–0.15 U/kg IV	< 5.1 (nadir glycémique < 2.2 mmol/L)
Arginine + GHRH	0.5g/kg pendant 30 min IV + 1 µg/kg IV	< 4.1
Arginine +L Dopa	0.5g/kg pendant 30 min IV + 500 mg per os	< 1.7
Hexarelin + GHRH	0.25 µg/kg IV + 1 µg/kg IV	< 9
GHRH + GHRP-6	1 µg/kg IV + 1 µg/kg IV	< 10

L'interprétation des valeurs seuils reste soumise à débat étant donné qu'elles ont été établies avec une trousse de dosage particulière et contre un standard international particulier.

Chez l'enfant, les tests les plus utilisés explorent la réponse hypothalamique, les tests évaluant la réserve hypophysaire (GHRH) étant rarement utilisés. L'hypoglycémie insulinique est le test de référence (avec les précautions qui s'imposent) et peut se combiner à l'arginine.

Les tests de stimulation à l'arginine ou à l'ornithine peuvent être utilisés en première intention. Enfin l'association de  $\beta$ -bloquants et du glucagon sont également très utilisés en seconde intention, sachant que 2 tests sont nécessaires pour autoriser un traitement substitutif à la GH.

#### 4.4.2.2 Tests de freination

Seul le test d'hyperglycémie provoquée par voie orale est utilisé en routine clinique (174). Il a pour objectif d'évaluer la capacité de l'hypothalamus à réprimer la sécrétion de GH après administration orale d'une solution contenant 75 grammes de glucose. Il consiste à mesurer le nadir de la sécrétion de GH entre 15 et 120 minutes après l'administration. Étant donné la sensibilité de la GH au stress, il est recommandé de doser la concentration plasmatique basale de GH 30 à 60 minutes avant l'administration.

Une concentration plasmatique de GH inférieure à 1 µg/L après charge orale en glucose est considérée comme une freination normale (174). Cette valeur seuil est cependant discutée.

#### 4.5 Situations pathologiques de sécrétion d'hormone de croissance

Les situations de déficit ou d'excès de sécrétion de GH constituent des modèles « humains » de la pathologie de l'axe somatotrope. Elles permettent - dans le cadre de notre travail - d'appréhender d'une part, les rôles physiologiques essentiels de cette hormone dans les adaptations cardiovasculaires et musculaires de l'organisme à l'effort et, d'autre part, les conséquences pathologiques d'administrations répétées et abusives de GH ou de sécrétagogues.

##### 4.5.1 Déficit en hormone de croissance

Contrairement à celui de l'enfant (où la principale cause est idiopathique) le déficit en GH débutant à l'âge adulte résulte des conséquences de l'effet de masse des tumeurs pituitaires (ou péri-pituitaires) et/ou des thérapeutiques (chirurgie, radiothérapie) qui ont été utilisées (174, 185). Le rôle de la GH sur la croissance squelettique est individualisé depuis longtemps puisque l'instauration d'une substitution hormonale permet de pallier le déficit statural des enfants déficitaires (174). Des observations plus récentes chez l'adulte suggèrent que la GH joue également un rôle dans le contrôle de la composition corporelle (181, 184), de la masse musculaire (184) et de la fonction cardiaque (186). En effet, les adultes déficitaires en GH ont une surcharge pondérale avec augmentation de la masse grasse et diminution de la masse musculaire, des troubles du métabolisme du cholestérol et une altération de la fonction diastolique et systolique (Cf. tableau VII).

**Tableau VII : Anomalies liées au déficit en GH et effet de la substitution hormonale [adapté d'après (185)]**

	<b>Déficit en GH</b>	<b>Effets de la substitution hormonale</b>
Neuropsychiques	↓ vitalité, dépression, isolement	↑ vitalité et bien être
Composition corporelle	↓ Masse maigre ↑ Masse grasse sous cutanée et viscérale	↑ Masse maigre ↓ Masse grasse sous cutanée et viscérale
Volume plasmatique	↓	↑
Volume érythrocytaire	↓	↑
Densité minérale osseuse	↓	↑
Remodelage osseux	Effets controversés	↑ ostéoformation et résorption
IGF1 plasmatique	↓ (parfois normal chez l'adulte)	↑
Métabolisme du cholestérol	↑ LDL cholestérol	↑ HDL-cholestérol (?)
Effet métaboliques	↓ métabolisme basal	↑ métabolisme basal ↑ Oxydations lipidiques ↑ synthèse protéidique
Tolérance à l'effort	↓ puissance aérobie ↓ force musculaire	↑ VO2 max ↑ masse et force musculaire

L'augmentation des risques cardiovasculaires qui en résulte, entraîne une diminution de l'espérance de vie des sujets déficitaires en GH (266). Ces altérations sont réversibles après traitement substitutif hormonal.

Ces complications observées chez le sujet déficient en GH aident à la compréhension du rôle de la GH dans le contrôle du métabolisme énergétique et de l'anabolisme protidique. L'amélioration de la tolérance à l'effort et de la composition corporelle après substitution hormonale, expliquent également pourquoi cette hormone peut être détournée de son usage pour améliorer les performances chez le sportif, bien que l'administration de doses supra-physiologiques de GH n'a entraîné aucun bénéfice chez le sujet sain, le sujet âgé ou le sujet entraîné (108, 267).

#### **4.5.2 Sécrétion tumorale de GH**

L'acromégalie est une maladie qui traduit un excès de production de GH (exceptionnellement de GHRH) d'origine tumorale, hypophysaire dans la plupart des cas (174, 268). Il s'agit d'une affection rare (prévalence estimée à environ 40 cas pour 1 million), d'évolution très lente, dont la plupart des complications (excepté le syndrome tumoral) (Cf. tableau VIII) est liée aux taux circulants anormalement élevés de GH et d'IGF1 (268). En effet, le contrôle de l'évolutivité de la maladie, normalise le taux de mortalité en fonction de l'âge des acromégales (269, 270).

Le diagnostic biologique d'acromégalie repose sur des taux plasmatiques d'IGF1 élevés et sur un taux plasmatique de GH non freinable par l'administration orale de glucose (174).

L'étude des causes de surmortalité induite par l'acromégalie nous paraît intéressante dans la perspective à moyen terme des effets de l'administration abusive et prolongée de GH. Dans l'acromégalie, ce risque semble essentiellement d'origine cardio et cérébrovasculaire (271), surtout si ces patients ont une hypertension et un diabète associés et que la durée d'évolution de la maladie est longue (268). L'absence de contrôle de la maladie joue également un rôle essentiel dans l'augmentation de la mortalité et la progression des complications (268, 271).

La surmortalité par cancer chez les acromégales est sujette à débat (271). Dans une analyse rétrospective de la littérature (268), sur 4886 cas d'acromégalie, il existait une discrète augmentation du nombre de cancer colorectaux alors que l'incidence des cancers de prostate ou du sein était identique ou réduite par rapport aux taux attendus dans la population générale. Cette analyse est concordante avec l'étude Orme et al. (269) qui montre une augmentation du risque de décès par cancer chez les acromégales traités pour lesquels la maladie n'est pas contrôlée par le traitement (ratio standardisé de mortalité 1.81) alors qu'il est identique

lorsque la maladie est bien contrôlée (ratio standardisé de mortalité 0.96). De même, le suivi d'adultes déficitaires en GH et substitués n'a pas mis en évidence d'augmentation du nombre de cancers bien que cette étude soit de courte durée (272).

**Tableau VIII : Symptômes cliniques et biologiques de l'acromégalie d'après (268)**

Effets neurohormonaux induit par le développement tumoral	Troubles de l'acuité visuelle (champ visuel altéré) Hyperprolactinémie (tumeur mixte ou section hypophysaire) Hypopituitarisme (diminution sécrétion LH, TSH, ACTH)
Hypertrophie des tissus mous et cutanés	↑ volumes extrémités et dysmorphie faciale ↑ sudation
Altérations du système cardiovasculaire	Cardiopathie hypertrophique bi-ventriculaire ou septale Insuffisance cardiaque Hypertension artérielle Troubles du rythme cardiaque Dysfonction endothélium vasculaire Épaississement de la paroi carotidienne
Altérations métaboliques	Altération de la tolérance au glucose, résistance à l'insuline voire diabète Hypertriglycéridémie, hypercalciurie Balance protéidique positive ↑ remodelage osseux
Altérations respiratoires	Obstruction des voies aériennes supérieures et macroglossie Syndrome d'apnée du sommeil (origine obstructive et centrale) Troubles ventilatoires induits par les modifications de la compliance pulmonaire et du volume thoracique
Altérations articulaires et osseuses	↑ épaisseur du cartilage articulaire, arthrose polyarticulaire Hyperostose vertébrale engageante Syndrome du canal carpien ↑ densité minérale osseuse en absence d'hypogonadisme (273)
Développement de cancers	Discuté (271)
Autres conséquences endocriniennes	Thyréotoxique, Hyperparathyroïdie secondaire

Ces données épidémiologiques sont apparemment contradictoires avec les données expérimentales effectuées in vitro sur des lignées cellulaires. En effet, le rôle de l'axe somatotrope dans le développement tumoral a été largement démontré in vitro (268, 271), la GH agissant sur la différenciation cellulaire, alors que l'IGF1 favorise l'expansion clonale et diminue l'apoptose. Chez l'homme, il a également été mis en évidence une augmentation du risque de cancer du sein (117), de la prostate (274) chez les patients qui avaient une concentration plasmatique d'IGF1 dans le tertile ou le quartile supérieurs des valeurs physiologiques.

Ces discordances peuvent être expliquées pour partie par le rôle protecteur de l'IGFBP3 qui aurait des effets opposés à ceux de l'IGF1 sur l'apoptose et la croissance cellulaire. Il a été démontré que les patients qui avaient un taux d'IGFBP3 élevé avaient un risque diminué de

cancer de la prostate (47). Ainsi, les sujets qui auraient une concentration élevée d'IGF1 avec un taux bas d'IGFBP3 auraient un risque supérieur de développer un cancer (271). L'acromégalie étant une situation biologique où il existe une concentration plasmatique élevée d'IGF1 et d'IGFBP3 ne serait donc pas une situation à haut risque.

Théoriquement, l'abus prolongé et isolé de GH ne représente donc pas un risque majeur de développement de cancer si l'augmentation de la concentration plasmatique s'accompagne également d'une augmentation de celle d'IGFBP3. Il faut cependant rester prudent, notamment chez les sujets ayant des facteurs de risques associés, car si l'excès de GH n'est pas initiateur de tumeurs, il en reste un facteur important de développement. Ainsi, il faut signaler, qu'une récente étude rétrospective à propos du suivi d'enfants déficitaires en GH et substitués à des doses thérapeutiques modérées, a montré une augmentation de la fréquence des cancers (275).

## 5 *Chapitre V : Physiologie du remodelage osseux*

Le squelette est composé d'une matrice minéralisée entourant des éléments cellulaires qui contrôlent le remodelage osseux. L'ensemble réalise une structure rigide qui permet le maintien du corps humain dans les mouvements – qui sont l'essence même du geste sportif – et assure également une fonction de réserve en protéides et en minéraux pour l'organisme.

Deux types d'architecture osseuse sont rencontrés chez l'adulte : 80% d'os cortical (diaphyses des os longs et corticales des os plats) et 20% d'os trabéculaire qui contient le tissu hématopoïétique (épiphyses des os longs et partie centrale os plats).

### 5.1 **Matrice osseuse et minéralisation**

Des fibres de collagène (essentiellement de type I) représentent 90% de la fraction protéique de la matrice osseuse. Elles sont insolubles et disposées en couches d'orientation variable, parallèles au sein d'une même couche, donnant une organisation en lamelles. Par leur structure en triple hélice, elles assurent la cohésion de l'os. Environ 10% des protéines de la matrice osseuse - dont la plupart est glycosylée d'où leur nom de protéoglycans - sont non-collagéniques et ont un poids moléculaire variable. Elles permettent des fonctions essentielles (formation de fibre osseuses, aide à la minéralisation, attachement entre les cellules et la matrice osseuse, signalisation du remodelage osseux).

Le collagène de type I est une protéine dont la structure est stabilisée par l'hydroxylation de deux acides aminés : la lysine et la proline. Cette réaction est sous la dépendance de la vitamine C (276). Il est initialement synthétisé par les ostéoblastes sous une forme soluble (pro-collagène) qui contient des extensions non hélicoïdales aux extrémités N et C terminales. Le pro-collagène est clivé par des peptidases spécifiques qui le rendent insoluble. La stabilisation de la molécule est réalisée grâce à des ponts intra et inter moléculaires ou « cross links ».

Les fibres de collagène mature sont minéralisées par des cristaux d'hydroxyapatite. Cette phase requiert la présence de phosphate et de calcium. Elle est contrôlée par les phosphatases alcalines osseuses (277). La vitamine D (1-25 OH D3) joue un rôle essentiel dans la minéralisation, son défaut de synthèse étant responsable d'une ostéomalacie. L'ostéocalcine, protéine de 49 acides aminés synthétisée par les ostéoblastes, permet la fixation des cristaux d'hydroxyapatite sur les fibres de collagène (278). Elle est active sous sa forme carboxylée qui est vitamine K2 dépendante (279).

## 5.2 Phase cellulaire

Les cellules occupant le tissu osseux sont d'une part les cellules hématopoïétique, d'autre part les cellules osseuses, à savoir les ostéoblastes qui assurent la formation osseuse et les ostéoclastes responsables de la résorption osseuse.

### 5.2.1 La fonction ostéoblastique

Les ostéoblastes sont dérivés de cellules souches mésenchymateuses pluripotentes qui se différencient en pré-ostéoblastes (280). Les pré-ostéoblastes se multiplient avant de se différencier en ostéoblastes qui sont responsables de la synthèse et de la sécrétion des protéines collagéniques et non-collagéniques qui vont former la matrice osseuse. Ils jouent également un rôle essentiel dans l'initiation et le contrôle de la résorption osseuse (Cf. figure n° 13) en activant les précurseurs des ostéoclastes ainsi que leur différenciation (281).

Les ostéoblastes finissent par s'entourer d'os néoformé et se différencient en ostéocytes, cellules qui ont un métabolisme plus faible et ont probablement un rôle dans la résistance de l'os aux contraintes mécaniques.

### 5.2.2 La fonction ostéoclastique

Les ostéoclastes sont des cellules multinucléées, hautement différenciées, issues de la fusion de cellules dérivées de la lignée macrophage-monocyte. Leur activation est responsable de la résorption osseuse.

## 5.3 Régulation du remodelage osseux

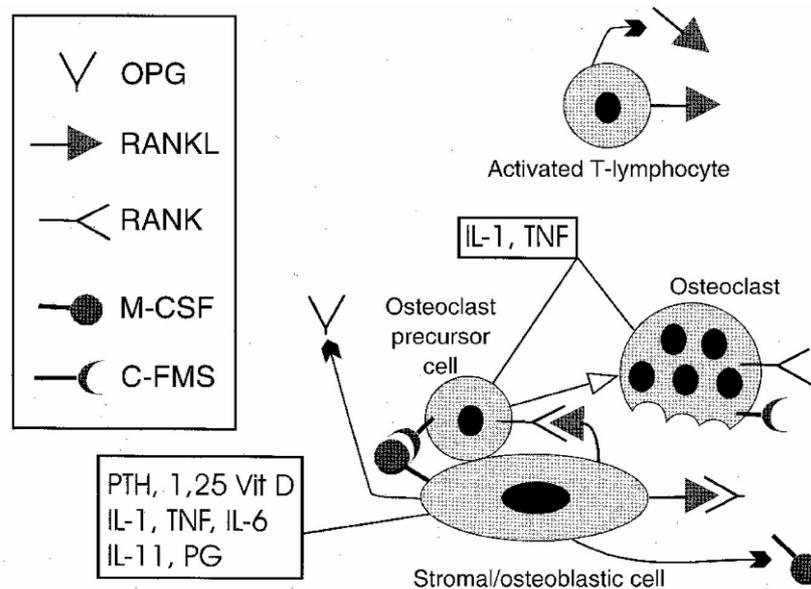
### 5.3.1 Le système RANK, RANKL, OPG

La résorption osseuse est initiée par un facteur sécrété par les ostéoblastes appelé RANKL (*receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B ligand*) (281). C'est un membre de la famille du TNF  $\alpha$  (*tumor necrosis factor  $\alpha$* ) qui va se fixer sur un récepteur présent à la surface des ostéoclastes (RANK). La liaison RANKL-RANK provoque des modifications transcriptionnelles qui vont activer la résorption osseuse et inhiber l'apoptose des ostéoclastes lorsqu'ils deviennent inactifs (282).

La synthèse de RANKL est activée de manière auto ou paracrine et par voie systémique par des hormones [parathormone (PTH), 1-25 OH D3 (283), GC], des cytokines pro-inflammatoires (IL 1, IL 6, TNF  $\alpha$  et la prostaglandine E2) [revue in (284)].

Les ostéoblastes sécrètent un autre facteur soluble, l'OPG qui est la partie extracellulaire de RANK(285) et qui est capable de se lier avec RANKL et d'empêcher sa liaison avec RANK présent sur l'ostéoclaste (Cf. figure n°13).

Figure n° 13 : Régulation du remodelage osseux d'après (282)



M-CSF : *Macrophage colony stimulating factor* ; C-FMS : récepteur au M-CSF exprimé à la surface des ostéoblastes

L'OPG est un puissant inhibiteur de la résorption osseuse (286) puisque son administration chez la souris inhibe la résorption osseuse et l'hypercalcémie provoquées par l'administration de PTH, la 1-25 (283) D3, l'IL1  $\beta$  ou le TNF  $\alpha$  (287). La synthèse d'OPG est activée par les œstrogènes, le *transforming growth factor  $\beta$*  et la *bone morphogenic protein 2*. Elle est inhibée par la prostaglandine E2, la parathormone et les GC chez l'homme (288, 289).

L'importance du remodelage osseux varie selon le type d'os. Chez l'adulte jeune, il permet le renouvellement annuel d'environ 25% de l'os trabéculaire (épiphyse des os longs et os plats) et 4% de l'os cortical (diaphyse des os longs). Cette différence peut s'expliquer par l'existence d'une surface de contact plus étendue entre l'os trabéculaire et le tissu hématopoïétique.

### 5.3.2 Evolution du remodelage osseux avec l'âge :

Chez l'adulte jeune sain, la formation et la résorption sont étroitement couplées. Il y a un équilibre entre la quantité d'os détruit et néoformé conduisant à une stabilité de la masse osseuse. La résorption osseuse et le recrutement du nombre d'unités de remodelage osseux augmentent avec l'âge entraînant ainsi un excès de résorption et une diminution de la masse osseuse. A la ménopause, la carence en œstrogènes accélère la perte osseuse en augmentant le remodelage osseux (290).

### 5.3.3 Effet des contraintes osseuses mécaniques

L'activité physique a un effet trophique incontestable sur le squelette (291). En effet, la gravité terrestre, les impacts et les contractions musculaires répétées sont responsables des variations de la masse osseuse. Ainsi, il existe une véritable plasticité du tissu osseux permettant l'adaptation de celui-ci aux contraintes qui lui sont appliquées. En effet, la diminution des contraintes osseuses, quelle qu'en soit l'étiologie [diminution de la gravité terrestre (vol spatial, alitement prolongé), diminution de l'activité musculaire provoquée par l'immobilisation plâtrée ou par la mise en décharge d'un segment de membre], entraîne une perte de masse osseuse [revue in (292)].

Inversement, la pratique régulière d'une activité physique exerce un effet trophique sur l'os puisqu'elle augmente le pic de masse osseuse chez l'adolescent ou ralentit sa décroissance avec l'âge (293, 294). Ainsi, le gain de masse osseuse n'est significatif que sur les pièces squelettiques sollicitées par les sports avec impacts (295, 296) et de charge (haltérophilie) (297), alors qu'il n'apparaît pas dans les sports portés (298).

Ainsi, il semblerait donc que les modifications du remodelage osseux provoquées par l'activité physique soient la conséquence de la transduction d'un signal mécanique en réactions biologiques (299). La normalité du fonctionnement des axes endocriniens est cependant indispensable pour que l'effet anabolisant de l'activité physique s'exerce sur l'os. En effet, toute altération de l'axe gonadotrope se traduit par une diminution de la densité minérale osseuse (13, 300).

## 5.4 Marqueurs du remodelage osseux

Les marqueurs du remodelage osseux sont classés en marqueurs de l'ostéoformation ou de la résorption osseuse. Leur dosage, dans le sérum ou les urines, permet dans certaines situations cliniques d'orienter la thérapeutique (notamment antirésorptive), de suivre la réponse aux traitements et de prédire la vitesse de perte osseuse (278). Leur sensibilité à l'administration de certaines substances dopantes (GH, GC) en font également des indicateurs potentiels pour apprécier le retentissement de l'utilisation de ces produits sur l'organisme des sportifs (105).

### 5.4.1 Variations intra-individuelles des concentrations plasmatiques ou urinaires des marqueurs osseux :

L'interprétation des dosages des marqueurs du remodelage osseux doit s'effectuer en ayant la connaissance des conditions pré-analytiques et des techniques de dosage utilisées (278, 301).

Parmi les conditions pré-analytiques, les conditions de recueil et de conditionnement des prélèvements ainsi que les caractéristiques liées à l'individu sont déterminantes. La variation

physiologique des ces paramètres dépend principalement de l'âge et du sexe (302). La concentration plasmatique des marqueurs du remodelage osseux évolue chez l'enfant parallèlement à la vitesse de croissance. Elle est très élevée chez le nouveau-né, diminue ensuite pour augmenter à la puberté. A l'âge l'adulte, elle diminue lentement jusqu'à 35 ans chez la femme jeune, pour se stabiliser jusqu'à la ménopause avant d'augmenter à nouveau en raison de la carence en œstrogènes (303). Chez le l'homme, il existe également un pic des marqueurs du remodelage osseux au milieu de la puberté avec un maximum qui se situe à l'âge de 20 ans notamment pour les marqueurs d'ostéoformation (304). Leur concentration plasmatique décroît rapidement jusqu'à 35 ans puis diminue lentement jusqu'à l'âge de 55 ans (305).

En pratique, l'interprétation des valeurs des marqueurs du remodelage osseux chez les sportifs de haut niveau, se fait en fonction de l'âge est cruciale, car la tranche d'âge concernée s'étend de 16 à 35ans (pour la majorité des disciplines sportives).

D'autres facteurs physiologiques peuvent faire varier les marqueurs du remodelage osseux (278) :

- La grossesse et la lactation qui augmentent la perte osseuse et les marqueurs du remodelage osseux,
- L'alitement et l'immobilisation augmentent essentiellement les marqueurs de résorption,
- Le rythme circadien avec un pic en fin de nuit,
- Le moment de la saison avec un nadir constaté en été.

En dehors des maladies osseuses, l'existence d'une fracture récente (quelques mois) (306) peut augmenter les marqueurs osseux (formation du cal). Certains médicaments diminuent le remodelage osseux (les œstrogènes en traitement substitutif ou sous contraception hormonale), le fluor, les biphosphonates, les anticonvulsivants, diurétiques thiazidiques, et les anticoagulants [l'héparine (diminution de l'ostéocalcine) et les anti-vitaminiques K (diminution de l'ostéocalcine carboxylée)]. Les glucocorticoïdes diminuent la concentration plasmatique d'ostéocalcine (172).

Par ailleurs, les femmes euménorrhéiques qui ont un déficit calorique présentent une diminution du remodelage osseux avec un découplage en faveur de la résorption (307). Ces modifications sont proportionnelles à l'importance du déficit calorique. Les adolescentes anorexiques (modèle pathologique de dénutrition chronique) ont également un découplage du remodelage osseux avec une diminution de la formation osseuse (308). La concentration plasmatique de ces marqueurs augmente avec la reprise pondérale (309). Les altérations hormonales induites par la restriction calorique jouent un rôle essentiel dans les modifications

du remodelage osseux et de la diminution de la densité minérale osseuse puisqu'elles contrôlent l'activité des ostéoblastes (80, 88, 307).

#### 5.4.2 Les marqueurs de formation osseuse :

Tableau IX : Les principaux marqueurs du remodelage osseux, reproduit d'après (278)

Marqueur	Tissu d'origine	Liquide biologique	Technique de dosage	Spécificité
<b>Marqueurs d'ostéoformation</b>				
<b>Phosphatase alcaline totale (ALP)</b>	Os, foie, rein, intestin, placenta	Sérum	Activité enzymatique	Formation osseuse en absence d'atteinte hépatique
<b>Phosphatase alcaline osseuse (b ALP)</b>	Os	Sérum	Electrophorèse par précipitation, IRMA, EIA	Formation osseuse
<b>Ostéocalcine (OC)</b>	Os, dentine	Serum	RIA, IRMA, ELISA	Ostéoblastes. Formation osseuse
<b>Peptide C-terminal du pro-collagène de type I (PICP)</b>	Os, tissu conjonctif ayant du collagène I	Serum	RIA, ELISA	Synthétisé par les fibroblastes et ostéoblastes
<b>Peptide N-terminal du pro-collagène de type I (PINP)</b>	Os, tissu conjonctif ayant du collagène I	Serum	RIA, ELISA	Synthétisé par les fibroblastes et ostéoblastes
<b>Marqueurs de résorption</b>				
<b>Hydroxyproline totale et dialysable</b>	Os, cartilage et autres tissus conjonctifs	Urine	Colorimétrie HPLC	Collagène fibrillaire et molécules collagéniques (C1q, élastine)
<b>Pyridinoline (PYD)</b>	Os, cartilage, tendons, vaisseaux, synoviale cartilage	Urine Sérum	HPLC ELISA	Collagène mature maximal dans l'os et le cartilage
<b>Désoxypyridinoline (DPD)</b>	Os, dentine, présence faible dans les autres tissus	Urine Sérum	HPLC ELISA	Collagène mature, maximal dans l'os
<b>C-télopeptide du collagène de type I (<math>\alpha</math>CTX, <math>\beta</math>CTX)</b>	Os et tissus contenant du collagène de type I	Urine ( $\alpha$ et $\beta$ ) Sérum ( $\beta$ )	RIA, ELISA, analyseur automatique	Collagène de type I essentiellement d'origine osseuse
<b>N-télopeptide du collagène de type I (NTX)</b>	Os et tissus contenant du collagène de type I	Urine Sérum	RIA, ELISA, analyseur automatique	Collagène de type I essentiellement d'origine osseuse
<b>Galactosylhydrolysine (Gal-Hyl)</b>	Os essentiellement	Urine Sérum	HPLC	Collagène et protéines collagéniques essentiellement osseux
<b>Sialoprotéine osseuse</b>	Os, dentine, cartilage hypertrophique	Serum	RIA, ELISA,	Semble refléter l'activité ostéoclastique
<b>Phosphatase acide tartrate résistante (TRAP)</b>	Os, plaquettes, érythrocytes	Plasma, sérum	Activité enzymatique RIA, ELISA,	Sécrétée par les ostéoclastes, Iso-enzyme 5b préférentiellement ostéoclastique

**La phosphatase alcaline totale et l'iso-enzyme osseuse :** L'ALP est une glycoprotéine de 507 acides aminés considérée depuis longtemps comme un marqueur du remodelage osseux. Elle interviendrait essentiellement dans la phase de minéralisation en hydrolysant les esters de phosphate nécessaires à la formation des cristaux d'hydroxyapatite (277). Son manque de spécificité osseuse car elle est produite dans plusieurs tissus (Cf. tableau IX), a conduit au développement du dosage de l'iso-enzyme osseuse (b ALP) présentant une réaction croisée avec l'iso-enzyme hépatique inférieure à 20% (310).

**L'ostéocalcine :** L'OC est un peptide de 49 acides aminés de poids moléculaire de 5,8 kDa. Elle contient des résidus d'acide  $\gamma$ -carboxy-glutamique (Gla) – d'où le nom initial de *Bone Gla-Protein* (BGP) - qui rendent la molécule active en raison de leur affinité pour le calcium. Cette carboxylation est une modification post-traductionnelle contrôlée par une carboxylase vitamine K dépendante (279). Elle est synthétisée par les ostéoblastes et est incorporée dans la matrice osseuse. Elle intervient à la phase de minéralisation osseuse mais son rôle exact n'est pas connu (278). Une faible partie de l'OC passe dans la circulation sanguine lors de la formation osseuse permettant son dosage sérique.

**Les peptides d'extension du pro-collagène de type I :** Ce sont les peptides des parties N et C-terminales du pro-collagène de type I issus de la protéolyse de la molécule après sa conformation en triple hélice dans le milieu extracellulaire. Leur mécanisme d'action n'est pas connu. Le collagène de type I étant majoritairement présent dans l'os, ils sont relativement spécifiques de la formation osseuse.

#### 5.4.3 Les marqueurs de résorption osseuse :

**L'hydroxyprolinurie :** Elle était, jusqu'à très récemment, un dosage de référence pour l'évaluation de la résorption osseuse. La proline est en effet un acide aminé très spécifique du collagène et subit une hydroxylation post-traductionnelle (311). Elle est libérée dans la circulation sanguine sous forme libre et excrétée par le rein. Compte tenu de l'importance du remodelage du collagène osseux, son dosage urinaire est représentatif de la résorption osseuse. Cependant, sa spécificité osseuse est limitée car certaines molécules collagéniques (notamment la fraction C1q du complément) participeraient à la constitution de 40% du pool urinaire d'hydroxyproline (312).

**La Galactosyl-hydrolysine :** Comme la proline (311), la lysine est un acide aminé spécifique du collagène résultant d'une hydroxylation post traductionnelle, ce qui la rend inutilisable pour la synthèse de novo du collagène. Elle est libérée dans la circulation sous forme

glycosylée lors de la dégradation du collagène. Elle serait un marqueur plus spécifique de la résorption osseuse que l'hydroxyprolinurie (313).

**Les molécules de pontage du collagène de type I et leurs télépeptides :** La pyrinidoline (PYD) ou désoxypyridinoline (DPD) ou « cross-links » assurent la stabilité de la molécule de collagène au niveau de ses télépeptides N et C terminaux. Lors de la dégradation de la matrice osseuse, ces molécules de pontages sont libérées majoritairement dans la circulation sous forme peptidique associée aux peptides C-terminaux (CTX) ou N-terminaux (NTX). Ces peptides sont ensuite dégradés par le rein et PYD ou DPD sont excrétés sous forme libre ou conjuguée à des peptides de faible poids moléculaire. Les dosages de sériques de DPD présentent peu d'intérêts diagnostiques (305, 314), mais ce sont les télépeptides qui sont le plus utilisés car ils présentent la meilleure sensibilité aux variations de la résorption.

**Sialoprotéine osseuse :** La sialoprotéine est une protéine non collagénique d'un poids moléculaire de 70 kDa synthétisée par les odontoblastes et les ostéoblastes (315). Elle a été également mise en évidence dans les ostéoclastes (316). Elle se fixe à la fois sur les cellules osseuses et sur la matrice collagénique. Sa concentration plasmatique est augmentée dans les maladies à haut remodelage osseux et diminue lors de l'administration de biphosphonates (317). Ainsi, la sialoprotéine serait plutôt un marqueur spécifique de la résorption osseuse.

**Phosphatases acide tartrate résistante (TRAP) :** La phosphatase acide possède plusieurs iso-enzymes sécrétée par l'os, la prostate, la rate et les cellules des éléments figurés du sang issus des lignées mégacaryocytaires et érythrocytaires (Cf. tableau IX). L'iso-enzyme osseuse est sécrétée par l'ostéoclaste et est résistante à l'acide tartrique contrairement à l'iso-enzyme prostatique. L'iso-enzyme 5b serait plus spécifique de l'ostéoclaste, mais son dosage manque actuellement de spécificité et limite son utilisation (278).

## 5.5 Régulations endocrines et auto/paracrines du remodelage osseux

Les hormones, les cytokines ou d'autres facteurs locaux activent la différenciation des cellules souches en précurseurs des ostéoblastes ou des ostéoclastes, induisent les divisions cellulaires de ces précurseurs et modulent le rapport RANKL/OPG qui, s'il augmente, favorise la résorption (Cf. § régulation de la fonction ostéoclastique).

### 5.5.1 Régulation systémique

#### 5.5.1.1 Hormones participant au maintien de l'homéostasie calcique

**Parathormone :** Elle agit directement sur l'ostéoblaste. Ses effets sur le remodelage osseux sont complexes puisqu'en administration discontinue, la PTH augmente la formation osseuse

en accroissant la synthèse locale d'IGF1. Si elle est produite en excès de manière continue (hyperparathyroïdie), elle augmente la résorption osseuse (augmentation de RANKL). La place de son utilisation dans le traitement de l'ostéoporose reste à préciser

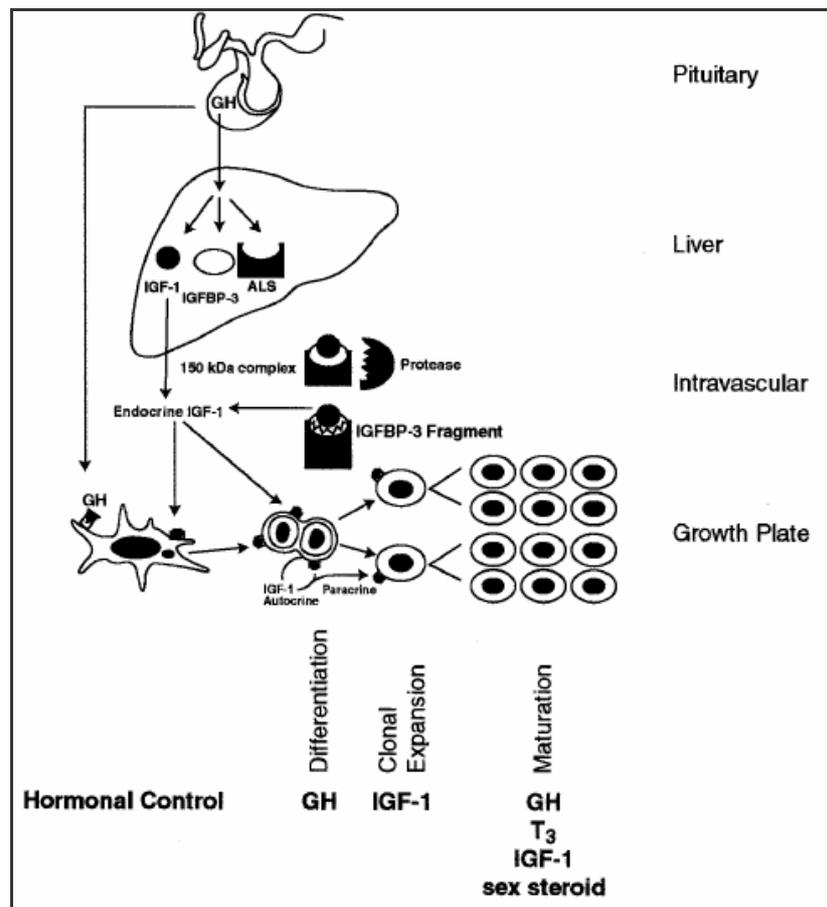
**La 1-25 OH D3 :** Elle aurait un rôle modulateur de l'action ostéoblastique. Globalement, il semblerait qu'elle augmente le rapport RANKL/OPG favorisant ainsi la résorption (284). Par ailleurs, elle stimule la synthèse d'ostéocalcine indispensable à la minéralisation osseuse.

**La calcitonine :** Elle a un rôle freinateur de la résorption osseuse en se fixant directement sur l'ostéoclaste. Lorsqu'elle est produite en excès (cancer médullaire de la thyroïde), elle entraîne une augmentation du remodelage osseux (318).

### 5.5.1.2 Autres hormones systémiques :

**GH/IGF1 :** Chez l'enfant, l'importance des effets de la GH sur la croissance des os longs est bien démontrée de même que le rôle de l'axe GH/IGF1 sur l'acquisition du pic de masse osseuse (Cf. figure n°14).

Figure n° 14 : Mode d'action de la GH sur la croissance osseuse in (174)



En effet, la GH induit la différenciation des cellules souches du cartilage de croissance ou des ostéoblastes, l'IGF1 entraînant leur différenciation et leur prolifération. Les stéroïdes sexuels agissent de manière synergique avec l'IGF1 notamment pendant la puberté [revue in (273)]. Chez des patients déficitaires en GH dont la maladie a débuté à l'âge adulte, il a été constaté une diminution de la densitométrie osseuse, suggérant que cette hormone exerce également un rôle important dans le contrôle de la masse osseuse chez l'adulte. Les effets du déficit en GH sur le remodelage osseux sont plus discutés [revue in (185)].

La substitution de ces patients augmente les marqueurs du remodelage osseux de manière dose dépendante (319) ainsi que la densité minérale osseuse. Dans l'acromégalie, il existe une augmentation du remodelage osseux (320) qui se normalise après traitement par un analogue de la somatostatine (octréotide) (321). Chez l'adulte sain, l'administration aiguë de GH augmente également le remodelage osseux (105).

Par ailleurs, les études effectuées *in vitro* ou sur les modèles murins transgéniques suggèrent que la GH exerce une action directe sur les ostéoblastes et une action indirecte via l'IGF1 par voie endocrine ou auto/paracrine (322).

**Glucocorticoïdes :** Les études cliniques effectuées chez les sujets ayant un excès prolongé de GC (syndrome de Cushing ou corticothérapie) ont montré une diminution sévère de la masse osseuse avec une ostéoporose souvent symptomatique (126, 172). Chez l'enfant, l'hypercorticisme diminue également la croissance longitudinale des os longs (323).

Les effets délétères des GC sur la masse osseuse peuvent s'exercer de manière indirecte car ils diminuent la sécrétion de la GH (Cf. chapitre sur régulation de la sécrétion de GH), freinent l'activité de l'axe gonadotrope (324) et s'opposent à la synthèse de l'IGF1 par l'ostéoblaste et à son action périphérique (172).

Les études *in vitro* ou chez l'animal ont montré que les GC exerçaient un effet direct sur les ostéoblastes en diminuant leur prolifération et en accélérant leur apoptose (282). Ils exerceraient leur action principale en diminuant la formation osseuse mais seraient également capables d'activer la résorption osseuse en augmentant la synthèse de RANKL et en inhibant celle d'OPG (288). L'administration thérapeutique de GC, quel que soit leur mode d'administration, diminue les marqueurs de l'ostéoformation alors qu'elle a peu d'effets sur les marqueurs de résorption (172). Biologiquement, cette inhibition de l'ostéoformation se traduit par une chute de la concentration plasmatique d'ostéocalcine.

#### **Stéroïdes sexuels :**

La présence d'androgènes et d'œstrogènes est indispensable à la croissance avant la puberté et au maintien de la masse osseuse. Chez l'adolescent, ils induisent une accélération de la

croissance squelettique (Cf. figure n° 14), les œstrogènes étant indispensables à la soudure des cartilages de conjugaison dans les deux sexes (325, 326). Par ailleurs, les femmes et les hommes adultes hypogonadiques ont une diminution de la masse osseuse (327).

Les mécanismes par lesquels les stéroïdes sexuels agissent sur le remodelage osseux ne sont pas clairement élucidés. Les ostéoblastes qui possèdent des récepteurs aux androgènes et aux œstrogènes augmenteraient la production de collagène et diminueraient la synthèse locale de cytokines responsables du recrutement des précurseurs des ostéoclastes et de l'augmentation de RANKL [revue in (282, 284)].

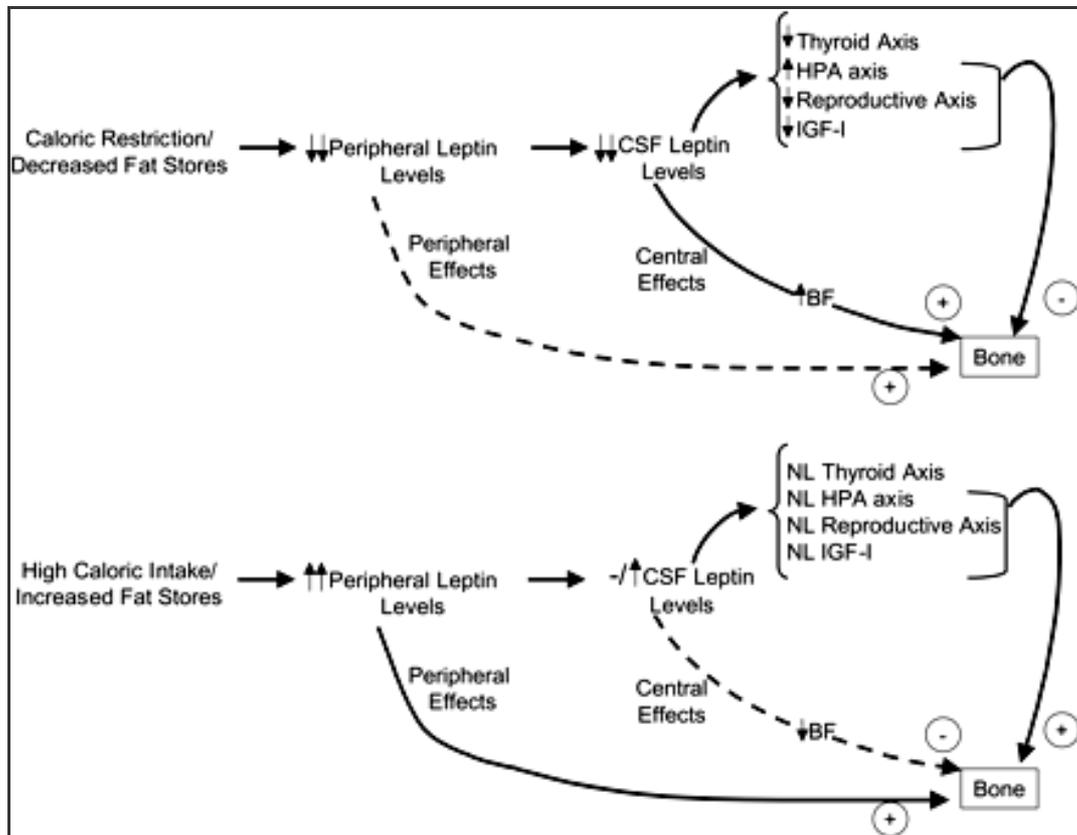
**Hormones thyroïdiennes :** Les hormones thyroïdiennes sont impliquées dans le contrôle du remodelage osseux mais leur rôle précis n'est pas connu, les sujets hyperthyroïdiens ayant une augmentation du remodelage osseux qui prédomine sur la résorption (328).

**Insuline :** L'association d'une concentration élevée d'insuline et d'une masse osseuse élevée chez les sujets obèses suggèrent que cette hormone aurait un rôle régulateur dans la régulation du métabolisme en stimulant l'activité ostéoblastique (329). Cependant, d'autres mécanismes, comme l'augmentation de la contrainte mécanique liée au surpoids ou l'augmentation de l'aromatisation des androgènes en œstradiol par les adipocytes, peuvent également expliquer l'effet protecteur de l'obésité sur le squelette.

**Leptine :** Cette cytokine qui est sécrétée par les adipocytes, est un régulateur de la prise alimentaire et permet contrôle le poids (330). Récemment, son implication dans le contrôle de la masse osseuse a été mise en évidence. La leptine exerce des effets opposés sur l'ostéoblaste (Cf. figure n°15) selon qu'elle agit par voie neurologique centrale (ostéopénisante) (331) ou par voie périphérique (ostéoformatrice) (332).

Les études *in vitro* sur les cellules médullaires humaines suggèrent qu'elle exerce un effet ostéoformateur par une action directe sur l'ostéoblaste (332). Chez des rates ovariectomisées, lorsqu'elle est administrée par voie veineuse, elle a un effet protecteur sur la perte de masse osseuse (333). Enfin, chez l'homme, il existe une corrélation positive entre la densité minérale osseuse et la concentration plasmatique de leptine dans certaines situations - sujet obèse (334), femme ménopausée (335). Récemment, Welt et al. (336) ont montré que l'administration périphérique de leptine recombinante à des femmes aménorrhéiques augmentait les concentrations plasmatiques des marqueurs de l'ostéof ormation (ostéocalcine, phosphatases alcalines osseuses) et non celle des marqueurs de résorption (NTx urinaires). Ces modifications étaient également associées à une augmentation des concentrations plasmatiques d'œstradiol, d'IGF1, d'IGFBP3 alors qu'il n'y avait pas de modifications du poids.

Figure n° 15 : Actions centrales et périphériques de la leptine sur le métabolisme osseux.  
Relations avec le statut nutritionnel d'après (332)



Inversement, la leptine active la résorption osseuse en augmentant la synthèse de RANKL par l'ostéoblaste via le système nerveux central par voie  $\beta$  adrénergique (337). La leptine agit également en diminuant la synthèse d'un neuropeptide (*cocaine-amphetamine regulated transcript*) qui inhibe la résorption osseuse en réduisant l'expression de RANKL (338).

Cependant, chez l'homme, l'administration de  $\beta$ -bloquants chez des sujets hypertendus ne semble pas augmenter la densité minérale osseuse ni réduire le risque de fracture (339). L'administration prolongée de  $\beta$ 2 mimétiques chez les sportifs asthmatiques pourrait être responsable d'une diminution de la masse osseuse.

## 5.5.2 Régulation locale

### 5.5.2.1 Facteurs de croissance

Des facteurs de croissance locaux synthétisés par les cellules osseuses augmentent la formation osseuse et/ou inhibent la résorption osseuse par action auto ou paracrine. Les plus

importants semblent l'IGF1 dont l'action pourrait être contrôlée par la GH, le TGF  $\beta$  (*transforming growth factor*) ou des facteurs de croissance apparentés [BMP (*bone morphogenic protein*), ainsi que certains FGF (*fibroblast growth factor*). Ces facteurs stimuleraient la différenciation et la prolifération des pré-ostéoblastes [revue in(284)].

#### **5.5.2.2 Cytokines :**

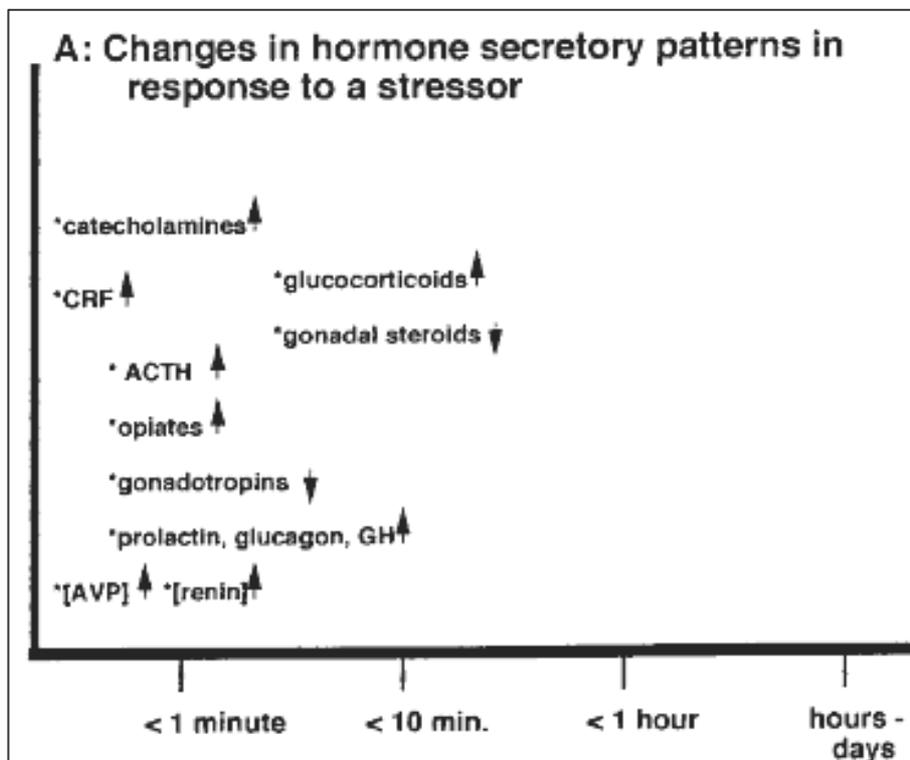
Les cytokines pro-inflammatoires (IL 1 b, IL 6, TNF a) augmentent l'activité des ostéoclastes en augmentant RANKL et inhibant la synthèse d'OPG (Cf. figure n°11). Elles augmentent également la prostaglandine E2 qui est un puissant stimulateur de la résorption osseuse [revue in (284)].

## 6 Chapitre VI : Effets de l'activité physique sur l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien

L'effort musculaire, quelles que soient sa durée et son intensité, provoque une contrainte importante pour l'organisme. En effet, l'augmentation brutale de la demande métabolique qu'il induit va entraîner, entre autres, des réponses neuroendocriniennes dont les effets seront d'augmenter les apports de substrats énergétiques et de comburant nécessaires à la production et au renouvellement de l'énergie indispensable à la contraction musculaire, et qui permettront de maintenir l'homéostasie de certaines fonctions vitales (glycémie, volémie).

Dans un premier temps (Cf. figure n°16), quelques secondes après le début de l'effort, outre l'activation du système orthosympathique, la libération brutale de CRF (voire d'AVP) dans la circulation portale hypophysitaire va induire la production d'ACTH et diminuer la production des gonadolibérines (22). Il y a également une augmentation la production de GH, de prolactine et de la sécrétion pancréatique de glucagon.

Figure n° 16: Variations hormonales en réponse à un stress, d'après (21)



Dans un deuxième temps (quelques minutes), l'augmentation de la concentration plasmatique d'ACTH active la synthèse et le relargage du cortisol dans la circulation sanguine. Les effets

métaboliques liés à l'augmentation de la concentration plasmatique du cortisol ne s'exerceront qu'après un délai de quelques minutes (néoglucogenèse) à plusieurs heures, certaines réactions nécessitant des modifications transcriptionnelles (21). Ainsi, ces modifications stéréotypées en réponse à un « stress » vont provoquer des modifications hormonales importantes pour assurer :

- 1 Le détournement de l'énergie au profit du muscle squelettique (mobilisation des réserves de substrats énergétiques (lipolyse), inhibition de l'utilisation périphérique du glucose, néoglucogenèse),
- 2 L'augmentation du débit cardiaque et sa répartition vers les muscles squelettiques au détriment des débits viscéraux,
- 3 La stimulation des fonctions immunitaires,
- 4 Des modifications neurobiologiques et comportementales,
- 5 La diminution de l'activité de l'axe gonadotrope.

Les mécanismes neuroendocriniens qui entraînent l'activation de l'axe HHS lors d'un exercice musculaire bref ne sont pas élucidés. La baisse de la glycémie (131), de la volémie et les variations de l'osmolalité (340) lors d'efforts intenses et prolongés peuvent moduler son activation. Les cytokines, notamment l'IL-6, sont également impliquées dans l'activation de l'axe corticotrope au cours de l'effort musculaire prolongé (134). En effet, L'IL-6 est produite par le muscle (341) et le foie pendant l'effort en réponse à la diminution des stocks de glycogène (342). Ainsi, au cours d'un effort de courte durée (inférieur à 20 minutes), les effets métaboliques et cardiovasculaires de l'axe HHS s'exerceront essentiellement par le CRF (21).

### **6.1 Facteurs influençant la réponse de l'axe HHS lors d'un effort musculaire**

Plusieurs facteurs activent l'axe HHS pendant l'effort musculaire. Parmi ceux-ci, l'intensité joue un rôle prédominant, mais la réponse de l'axe HHS peut également être modulée par le type d'effort, sa durée, certaines situations physiologiques (post prandiale) et les caractéristiques individuelles (essentiellement le niveau d'entraînement ainsi que le statut nutritionnel).

#### **6.1.1 L'intensité :**

Quel que soit le mode d'exercice (endurance ou résistance), il existe une corrélation positive entre l'augmentation des concentrations plasmatiques du cortisol et d'ACTH et l'intensité de l'effort (23, 343-348). Les concentrations plasmatiques du cortisol plasmatique et d'ACTH

augmentent parallèlement à celles de l'acide lactique (345, 346, 348-350) qui est un excellent reflet de l'intensité d'un effort musculaire (1).

Cependant, une intensité minimale (effet seuil) semble nécessaire pour activer l'axe HHS. Ceci suggère que cette activation serait fonction, non seulement de la demande métabolique, notamment en glucose, mais probablement du nombre (voire du type) d'unités motrices recrutées. En plus des effets neurologiques centraux, des effecteurs musculaires sensitifs (351) et/ou des signaux métaboliques sont vraisemblablement impliqués dans la stimulation de la réponse de l'axe HHS au cours de l'effort (Cf. chapitre VII).

En effet, certains auteurs ont montré que la concentration plasmatique de cortisol et/ou d'ACTH restait constante (346, 347, 352) voire diminuait (40, 353, 354) pour des efforts de faible intensité – inférieurs ou égaux à 50 – 60 % de la consommation maximale d'oxygène ( $VO_2$  max) ou lors d'exercices en résistance sollicitant un faible pourcentage de la force maximale volontaire. Par ailleurs, Few et al. (349) ont montré, qu'à puissance égale, un effort de pédalage réalisé sur un membre inférieur entraînait une augmentation de la concentration plasmatique de cortisol supérieure à celle d'un effort utilisant les 2 membres inférieurs. Hollander et al. (350) ont montré que la concentration plasmatique de cortisol était supérieure lors d'un effort musculaire concentrique à celle qui était obtenue lors d'un effort excentrique réalisé à la même puissance. Ces 2 dernières études suggèrent que la réponse de l'HHS est sensible au nombre et probablement au type de fibres musculaires sollicitées pour réaliser une intensité donnée. Ainsi dans l'étude de Few et al. (349), il est vraisemblable qu'un plus grand nombre de fibres glycolytiques ait été recruté puisque la masse musculaire sollicitée était plus faible. Dans l'autre étude, il est reconnu que l'effort musculaire excentrique entraîne un coût énergétique plus faible qu'un même effort réalisé au moyen de contractions concentriques.

### **6.1.2 La durée (effet volume) :**

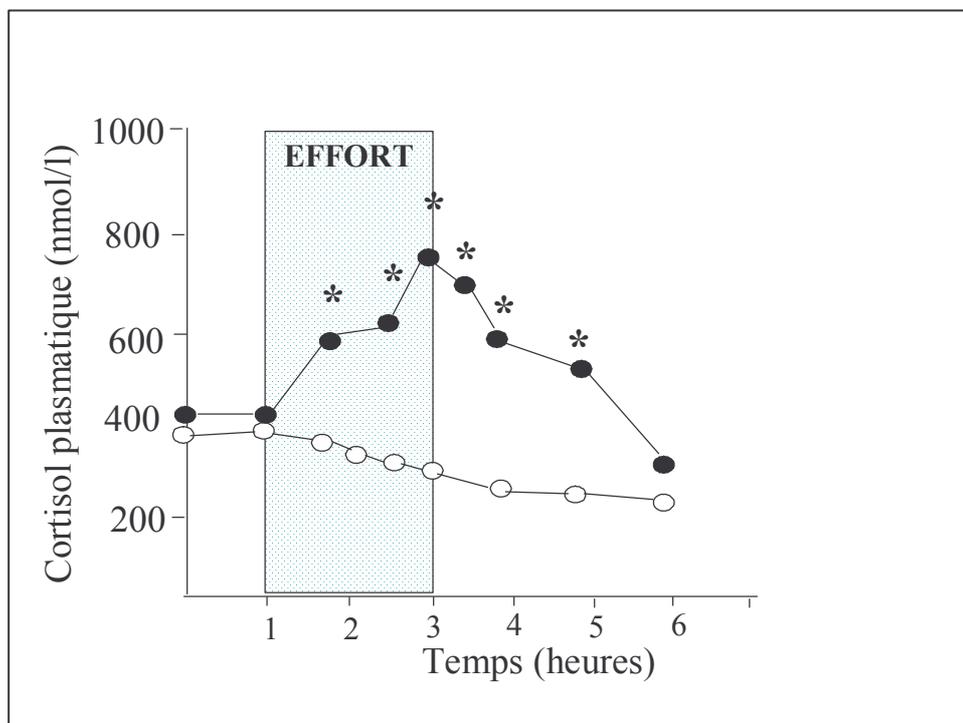
Quel que soit son type, la durée de l'effort musculaire semble être un facteur qui va influencer la réponse de l'axe HHS si l'effort est suffisamment intense.

Ainsi, les efforts continus sous-maximaux à faible intensité en course à pied de 7 (347), 20 (346), ou 90 minutes (23) n'ont pas déclenché de variation des concentrations plasmatiques d'ACTH ou de cortisol. Cette constatation a été également faite pour des exercices en résistance à faible intensité, que la durée soit prolongée (353), que le volume total soit faible (intensité et répétition faibles) (354) ou que le nombre de répétitions par séries soit faible avec une augmentation de la durée de récupération entre les séries (149).

Cependant, pour les efforts suffisamment intenses, la durée semble modifier la réponse corticotrope. Certains auteurs (23, 355) ont montré qu'un effort intense et prolongé en course à pied entraînait une augmentation de la concentration plasmatique de cortisol supérieure à celle provoquée par un effort supramaximal et de courte durée. La baisse de la glycémie lors d'effort prolongés (131) même peu intenses serait déterminante pour entraîner ou augmenter l'activation de l'axe HHS (356).

Bien qu'un exercice supramaximal de courte durée, 1 minute sur ergocycle à 120% de  $VO_2$  max (357) ou 1,5 minute 156% de  $VO_2$  max en course à pied (355), suffit à augmenter la concentration plasmatique d'ACTH et/ou du cortisol, il existe un décalage de plusieurs minutes entre l'augmentation de la concentration des hormones hypophysaires dans la circulation et celle du cortisol (21, 357). Cette inertie de l'activation de l'axe HHS a été également objectivée au cours d'un effort triangulaire exhaustif (effort d'intensité croissante mené jusqu'à épuisement du sujet) (344) durant lequel l'augmentation de la concentration plasmatique du cortisol n'apparaît qu'à 100 % de  $VO_2$  max alors que celle d'ACTH augmente à partir de 60 % de  $VO_2$  max (effet seuil).

**Figure n°17 : Evolution de la cortisolémie pendant et après un effort musculaire prolongé, d'après (50)**



Les cercles pleins correspondent aux valeurs observées durant l'effort, les cercles vides aux valeurs observées durant une période de repos ; \* valeurs d'effort significativement supérieures à celles de repos.

### 6.1.3 Evolution de la cinétique du cortisol au décours d'un effort :

Après un effort musculaire, si celui-ci a été suffisamment intense, la cortisolémie retourne à sa valeur de repos entre 2 et 4 heures (Cf. figure n° 17) quels que soient l'intensité ou le type d'effort (23, 50, 353, 358, 359). Par ailleurs, la sécrétion de cortisol durant la nuit qui suit un effort prolongé n'était globalement pas modifiée par rapport aux conditions de repos indépendamment de l'intensité de l'effort (360).

### 6.1.4 L'entraînement :

L'entraînement induit également des modifications de la réponse corticotrope lors d'un effort aigu, témoignant de l'adaptation de l'organisme à une contrainte cardiorespiratoire et métabolique répétée.

*Lors d'efforts sous-maximaux continus*, les concentrations plasmatiques d'ACTH ou de cortisol augmentent moins chez les sujets entraînés pour une puissance d'effort donnée (348). Cependant, lorsqu'on compare ces valeurs au pourcentage relatif de  $VO_2$  max ou au seuil lactique, les données de la littérature sont contrastées. Pour certains auteurs (42, 345, 361), la réponse de l'axe HHS est identique quel que soit le niveau d'entraînement. Pour d'autres (40), elle est supérieure chez les sujets entraînés. Ces discordances pourraient s'expliquer par des différences liées au type (résistance ou endurance) et au niveau d'entraînement (très entraînés ou modérément entraînés) des sujets testés. En effet, au cours d'un effort en résistance, Tremblay et al. (352) ont montré que la cortisolémie de sujets entraînés en endurance augmentait moins que des sujets entraînés en résistance. Luger et al. (348) ont constaté que des sportifs très entraînés avaient une diminution de la réponse corticotrope après administration de CRH.

Ces différences pourraient également s'expliquer par une diminution de la sensibilité tissulaire aux GC chez les sujets entraînés en endurance (modification de l'affinité du cortisol pour la CBG, des GR et /ou de l'activité de la  $\beta$  HSD) (44). Certains auteurs ont en effet montré qu'après une freination préalable à la DXM, la cortisolémie augmentait pendant un effort musculaire (362) ou après l'administration de CRH chez des sujets entraînés en endurance (363).

*Pour les efforts maximaux (361) ou supra-maximaux continus (347)*, les sujets entraînés ont une réponse de l'axe corticotrope supérieure à celle des sédentaires.

*L'entraînement en résistance* ne semble pas modifier la réponse corticotrope à l'exercice (46, 364).

**Chez les sujets surentraînés ou fatigués**, la réponse de l'axe HHS à un effort ou après une stimulation pharmacologique est diminuée. Barron et al. (81) ont décrit une diminution de la sécrétion d'ACTH et de cortisol en réponse à une hypoglycémie provoquée par l'administration d'insuline chez 4 sujets surentraînés alors qu'elle était normale chez des sujets entraînés asymptomatiques. Chez des sportifs présentant une fatigue aiguë provoquée par une surcharge d'entraînement, Urhausen et al. (365) ont constaté une diminution de la sécrétion d'ACTH lors d'exercice maximaux par rapport à des sujets normalement entraînés. Chez des cyclistes, Meeusen et al. (366) ont montré que la réponse corticotrope (ACTH) à un effort maximal était diminuée au décours d'un entraînement intensif par rapport à la situation qui précédait la période d'entraînement. Cette réponse était encore plus altérée chez un sportif qui était surentraîné. Ces résultats sont en faveur d'une désadaptation hypothalamo-hypophysaire chez les sujets fatigués ou surentraînés.

#### **6.1.5 Les aspects nutritionnels**

La proximité d'un repas, l'administration d'hydrates de carbone pré ou per exercice, ainsi qu'un régime enrichi en glucides, peuvent moduler la réponse corticotrope au cours d'un effort musculaire. Lorsqu'un effort est effectué après un repas, notamment le midi, celui-ci provoque une forte atténuation de la réponse de l'axe corticotrope (367). Cet effet serait dû à la rétroinhibition du cortisol plasmatique déclenchée par l'alimentation. Il est moins prononcé le soir lorsque le cortisol plasmatique est à son nadir.

L'addition de glucose pendant un effort prolongé diminue la concentration plasmatique du cortisol et d'ACTH (368) et/ou d'ACTH (356). L'IL6 pourrait être le médiateur puisque sa concentration est atténuée lors de l'administration d'hydrates de carbone avant (369), ou pendant l'effort (368). Pour certains auteurs (370-372), les cytokines – en particulier l'IL6 – feraient le lien physiopathologique entre la désadaptation hypothalamo-hypophysaire du surentraînement et la répétition proche d'effort musculaires intenses, source de production d'IL6 (341).

#### **6.1.6 Le moment du nyctémère**

Les variations de la concentration plasmatique du cortisol étant soumises à l'influence du nyctémère, l'interprétation de la réponse de l'axe HHS lors d'un effort musculaire doit s'interpréter en fonction de l'horaire auquel il est effectué. Ainsi, pour un effort continu de 40 minutes à 70% de  $VO_2$  max réalisé à 8 heures, l'augmentation du cortisol plasmatique était sous estimée de 93% contre seulement 37% lorsqu'il était réalisé à 20 heures (153). Ces auteurs recommandent que la cinétique de la réponse du cortisol plasmatique (ou salivaire) à

l'effort soit comparée aux fluctuations du cortisol dans des conditions basales. Les efforts musculaires réalisés le matin semblent être un facteur confondant important puisque les concentrations du cortisol décroissent rapidement après 8 heures.

### **6.1.7 L'âge**

Indépendamment du niveau d'entraînement, l'augmentation du cortisol plasmatique de sujets âgés pour un effort maximal est inférieure à celle de sujets jeunes (361).

### **6.1.8 L'hypoxie**

A puissance égale, un effort musculaire prolongé effectué à 85% de  $VO_2$  max dans des conditions hypoxiques entraîne une plus grande activation de l'axe corticotrope (42). Cet effet est inversement proportionnel à la pression partielle en  $O_2$  (351). Ces études suggèrent qu'il faut une fonction surrénalienne normale pour effectuer des efforts prolongés en altitude.

## **6.2 Effets de l'entraînement**

La principale fonction de l'axe HHS est de permettre à l'organisme de s'adapter aux conditions stressantes qu'elles soient aiguës ou répétées (21). L'entraînement sportif, d'autant plus qu'il est associé à des contraintes psychologiques, représente un modèle de chronique de stress qui nécessitent des réponses adaptatives (373). Comme il a été mis en évidence un hypercorticisme chez des sujets dépressifs ou dénutris (374, 375) qui sont des situations de stress chronique, ces anomalies pourraient également être constatées chez des sujets ayant une pratique sportive intensive. Or, les données de la littérature sont contrastées.

### **6.2.1 Etudes n'ayant pas mis en évidence de modifications de la fonction corticotrope.**

Chez les sportifs d'endurance ou dans les études qui utilisaient des efforts en endurance, Duclos et al. (50, 376) n'ont pas mis en évidence de variation de la cortisolémie basale, ni du cortisol libre urinaire chez des marathonniens (377) ou des triathlètes (44, 360, 378, 379) par rapport à des sédentaires. La cortisolémie basale et la réponse hypophysaire à une stimulation pharmacologique au CRF d'athlètes d'endurance âgés n'était pas modifiées (379).

Chez les sportifs ou les études utilisant un entraînement en résistance, la plupart des études n'ont pas mis en évidence de modifications de la concentration plasmatique de cortisol [revue in (46)].

### **6.2.2 Etudes ayant mis en évidence de modifications de la fonction corticotrope.**

Plusieurs auteurs ont mis en évidence que la cortisolémie basale ou le cortisol salivaire de sportifs très entraînés augmentait avec l'entraînement ou était supérieure à celle de groupes

contrôle quelle que soit la discipline pratiquée (380-383). Le cortisol basal était d'autant plus élevé que la pratique était intensive (sportifs élités), voire s'associait à une restriction calorique (382). D'autres ont mis en évidence une inversion du rythme nyctéméral du cortisol et une altération de la réponse à l'administration de CRF (348) chez des sportifs très entraînés quand ils étaient comparés à des sujets sédentaires ou moins entraînés. Loucks et al. (84) ont constaté une augmentation du cortisol basal à 8 heures chez les sportives par rapport à des femmes sédentaires ainsi qu'une diminution de la réponse hypophysaire à l'administration de CRF ou après un repas. De plus, le cortisol plasmatique restait élevé entre 18 et 24 heures chez les sportives qui étaient en aménorrhée. Enfin, Villanueva et al. (384) ont constaté une augmentation de la concentration plasmatique de cortisol (sans modification de celle de la CBG) et du cortisol libre urinaire chez des coureuses à pied comparées à des sédentaires. L'augmentation du CLU était plus importante chez les sportives en aménorrhée.

**En résumé :** Les discordances qui apparaissent entre certaines études peuvent être issues des différences de conditions expérimentales. Les effectifs sont parfois faibles (moins de 10 individus) limitant la puissance des études et les sports pratiqués difficilement comparables en terme de dépense énergétique de même que le type et les niveaux d'entraînement.

Certains éléments semblent néanmoins se dégager :

- (i) La cortisolémie basale et le CLU sont normaux chez le sujet modérément entraîné,
- (ii) L'intensité de la pratique semble positivement corrélée avec la cortisolémie basale, traduisant un retentissement possible de la pratique intensive du Sport sur l'axe HHS,
- (iii) L'association à un déficit calorique augmente également le cortisol basal comme cela a été montré chez les patientes anorexiques (375),
- (iv) Les perturbations de l'axe HHS sont plus fréquemment observées chez les sportives en aménorrhée.

Même si la cortisolémie basale est plus élevée chez les sportifs élités, il est cependant impossible de faire la distinction entre un hypercorticisme ou une adaptation de l'axe HHS aux contraintes imposées par la pratique intensive du Sport à l'organisme. Duclos et al. (44, 377) ont montré qu'il existait une diminution de la sensibilité tissulaire aux glucocorticoïdes chez des sportifs entraînés en endurance, suggérant l'existence de mécanismes d'adaptation aux sollicitations répétées de l'axe corticotrope. Ces mécanismes peuvent relever d'une modification de l'affinité du cortisol pour la CBG ou pour les GR, ainsi que de modifications de l'activité de la 11  $\beta$  HSD qui modifie la sensibilité tissulaire aux GC et leur clairance métabolique (145). Cette dernière hypothèse est suggérée par certains auteurs (385) qui ont proposé le ratio cortisone/cortisol urinaire de 24 heures comme indicateur de fatigue, alors

que sa diminution a été décrite chez des sujets surentraînés (378). Ainsi, chez ces sportifs, la diminution de ce rapport serait plutôt en faveur d'une diminution de l'activité de la 11  $\beta$  HSD2 (385). Elle pourrait entraîner une augmentation de la demi-vie plasmatique du cortisol, donc de ces effets biologiques sur certains tissus ainsi que la freination de la sécrétion d'ACTH comme cela est décrit dans les déficits congénitaux de cette enzyme (386).

**Chez le sportif surentraîné**, les modifications du cortisol plasmatique sont discutées. Il existe un nombre très faibles d'études contrôlées qui n'ont pas mis en évidence de modifications de la concentration plasmatique basale de cortisol, alors que la réponse de l'axe HHS après stimulation pharmacologique ou après effort était altérée (81, 365, 366).

## 7 *Chapitre VII: Effets de l'activité physique sur la régulation de l'axe somatotrope*

L'activité physique est un puissant stimulus de la sécrétion de GH. Elle entraîne une réponse hypophysaire proportionnelle à l'intensité de l'effort musculaire (40, 387, 388). L'augmentation de la concentration plasmatique de GH lors d'un exercice sous-maximal (75 à 90% de VO<sub>2</sub> max) serait équivalente à celle provoquée par une hypoglycémie insulémique (388). Les mécanismes neurophysiologiques qui conduisent à déclencher la sécrétion de GH lors d'un effort musculaire ne sont pas élucidés, plusieurs facteurs étant susceptibles de diminuer le tonus somatostatinergique ou d'augmenter la sécrétion de GHRH (45, 176).

### 7.1 **Régulation neuroendocrinienne de la sécrétion de GH**

L'activation de l'axe somatotrope par l'effort musculaire reste incomprise. Comme au repos (Cf. figure n°6 chapitre IV), elle s'effectue vraisemblablement par un mécanisme complexe qui associe la stimulation des neurones hypothalamiques sécrétant le GHRH, la diminution du tonus somatostatinergique et l'augmentation d'un GHRP (176, 389). La ghreline, récemment découverte, semble donc un candidat potentiel (45), mais sa concentration plasmatique ne varie pas durant un effort musculaire prolongé au seuil lactique (390).

L'effort musculaire, s'il est suffisamment intense, est capable d'augmenter la sécrétion de GH de manière équivalente à celle provoquée par le GHRH (389, 391). Par ailleurs, l'administration de GHRH préalablement à un effort musculaire intense entraîne un effet potentiateur sur la sécrétion de GH (391). Cette potentialisation est également provoquée en administrant un peptide sécrétagogue (GHRP-2) durant un effort intense (389). Ces expériences suggèrent que la sécrétion de GH induite par l'effort musculaire ne peut être expliquée par la seule activation des neurones à GHRH ou d'un mécanisme ghreline dépendant.

#### 7.1.1 **Rôle du système adrénergique :**

Au cours de l'effort musculaire, l'augmentation de la concentration plasmatique des catécholamines ne semble pas responsable de l'augmentation de la sécrétion de GH (176, 392) puisque les pics de concentration de GH et des catécholamines sont décalés dans le temps (392). De plus, la concentration plasmatique des catécholamines n'est probablement pas un reflet fidèle de l'activité des neurones hypothalamiques catécholaminergiques.

En revanche, le système  $\beta$  adrénergique qui active le tonus somatostatinergique (inhibiteur de la sécrétion de GH) pourrait moduler la réponse hypophysaire durant l'effort musculaire (176). En effet, la réponse hypophysaire à un effort musculaire est amplifiée par

l'administration de  $\beta$  bloqueurs non-sélectifs ou cardiosélectifs ( $\beta_1$ ) (393) ou par l'inhibition du tonus somatostatinerigique, alors que les  $\beta_2$  agonistes la répriment (394). Il est improbable que cette freination soit due à la faible augmentation de la glycémie ou de la lactatémie qui est observée sous  $\beta_2$  agonistes (176).

Plus récemment, il a été montré qu'un effort musculaire sous maximal prolongé n'entraînait pas d'augmentation supplémentaire de la concentration plasmatique de GH lorsqu'un inhibiteur du recaptage de la noradrénaline avait été administré préalablement (395). Ceci suggère que les voies noradrénergiques seraient impliquées dans la réponse hypophysaire à un effort musculaire donné, mais que cet effet est saturable et non additionnel.

Bien que les  $\alpha_2$  agonistes (clonidine) stimulent fortement la sécrétion de GH au repos, le rôle des récepteurs  $\alpha$  adrénergiques dans la sécrétion de GH à l'effort est plus discuté. En effet, il a été constaté des résultats opposés lorsque la phentolamine ( $\alpha$  antagoniste) était administrée préalablement à un effort musculaire (396, 397).

### 7.1.2 Rôle du système cholinergique :

Le système cholinergique est impliqué dans la régulation de l'activité du tonus somatostatinerigique (effet inhibiteur) au repos (voire chapitre régulation de la GH). L'administration d'agonistes cholinergiques ou de parasymphaticomimétiques suggère que ce système module également la sécrétion de GH au cours de l'effort musculaire. L'administration de pyridostigmine (inhibiteur de la cholinestérase) a un effet additif avec celui de l'effort musculaire sur la sécrétion de GH (398-400). Ainsi, l'augmentation de la sécrétion de GH au cours de l'effort ne serait pas uniquement liée à la diminution du tonus somatostatinerigique. Inversement, l'administration d'atropine (parasympathicolitique) bloque l'augmentation de la GH à un effort musculaire (177).

**En résumé**, l'effort musculaire est incapable de surpasser l'augmentation pharmacologique du tonus somatostatinerigique (antagoniste muscarinique ou  $\beta_2$  agonistes). Il est donc vraisemblable que les voies de signalisation neurologiques responsables de la sécrétion de GH au cours de l'effort musculaire convergent à proximité et en amont des systèmes de contrôle des voies somatostatinerigiques même si l'inhibition du tonus somatostatinerigique n'est pas le seul mécanisme responsable de l'augmentation de la sécrétion de la GH au cours de l'effort.

### 7.1.3 Rôle du système opioïde et autres voies de neurotransmission :

Bien que la concentration plasmatique des  $\beta$  endorphines augmente au cours de l'effort (347), leur rôle sur la modulation de la sécrétion de GH est discuté. L'influence du niveau d'entraînement est vraisemblable. En effet, au cours d'un effort, l'administration de naloxone (antagoniste morphinique) à des sportifs très entraînés inhibe la réponse somatotrope (401), alors qu'elle n'a aucun effet chez des sujets sédentaires (402).

Le système gabaergique exercerait un effet inhibiteur sur la sécrétion de GH au cours d'un effort musculaire puisque l'administration d'un agoniste gabaergique (acide valproïque) l'atténue et que son association avec la naloxone la réprime (402). Les systèmes opioïde et gabaergique exerceraient donc des effets complémentaires.

L'administration préalablement à un effort prolongé à 65% de  $VO_2$  max de paroxétine (inhibiteur du recaptage de la sérotonine) versus placebo, n'a pas provoqué d'effet additif sur la sécrétion de GH (403). Il est donc peu probable que les voies sérotoninergiques soient impliquées à l'effort.

**En résumé :** Les mécanismes qui augmentent la sécrétion de GH au cours d'un effort musculaire restent à élucider. L'inhibition du tonus somatostatinergique joue un rôle important puisque les substances qui l'augmentent sont de puissants inhibiteurs de cette sécrétion de GH. Les voies  $\beta$  adrénergiques et cholinergiques sont donc des effecteurs majeurs, alors que les voies opioïdiques et sérotoninergiques sont accessoires. Cependant, l'inhibition du tonus somatostatinergique n'est pas le seul mécanisme responsable de cette augmentation puisque c'est un phénomène saturable (398-400).

Il est également possible que l'activation des neurones à GHRH et /ou un mécanisme Ghreline-dépendant soient également impliqués. L'hypothèse que d'autres mécanismes non encore décrits [signaux musculaires périphériques (métaboliques ou neurologiques)] puissent jouer un rôle important dans la sécrétion de GH durant l'effort musculaire, reste également ouverte.

### 7.1.4 Rôle des variations métaboliques :

**Variations de la glycémie :** Au cours d'un effort musculaire, la glycémie varie en fonction de la durée et de l'intensité. Elle diminue parfois de manière importante pour des efforts de plusieurs dizaine de minutes (43) alors qu'elle tend à augmenter au cours d'efforts brefs et intenses (404). Ainsi, l'hypoglycémie qui survient lors d'efforts prolongés pourrait être un facteur d'augmentation de la sécrétion de GH (405). Au contraire, l'augmentation de la

glycémie, d'autant plus qu'elle est associée à l'augmentation de la concentration plasmatique en acides gras libres, devrait normalement inhiber la sécrétion hypophysaire de GH (Cf. chapitre IV). Au cours de l'effort musculaire, il existe donc un (des) mécanismes qui permet (tent) de surpasser des effets physiologiques inhibiteurs de l'axe somatotrope.

**Autres variations :** Bien que la concentration plasmatique de lactate (406) et le pH sanguin (407) varient au cours d'efforts intenses, il n'a pas été mis en évidence de lien direct entre l'augmentation de la sécrétion de GH et ces variations.

Le monoxyde d'azote dont la production augmente de façon très importante pendant l'effort ne semble pas modifier la réponse de la GH (408). De plus, comme nous l'avons indiqué (Cf. chapitre sur la régulation de l'axe somatotrope au repos), l'administration d'inhibiteur de la NO-synthase concomitante à celle de la *l*-arginine, n'inhibe pas la sécrétion de GH au cours d'un effort. Ces éléments suggèrent que c'est l'arginine et non la production de NO qui influe sur la sécrétion de GH.

### 7.1.5 Autres facteurs :

#### 7.1.5.1 Rôle de l'effecteur musculaire :

En plus des effets neurologiques centraux propres, l'augmentation de la sécrétion de GH pendant l'effort pourrait provenir d'une liaison neurologique musculo-hypothalamique (ou hypophysaire) (408). Gosselink et al. (409, 410) ont en effet mis en évidence que la concentration plasmatique de GH augmentait lors de la stimulation nerveuse périphérique chez des rats. La stimulation vibratoire de tendons de muscles de rats résultant de l'activation des fibres proprioceptives de type Ia augmenterait la sécrétion hypophysaire lorsqu'elle sollicite des muscles ayant une prédominance de fibres rapides (ces fibres sont généralement recrutées lors d'efforts intenses) et la diminuerait en cas de sollicitation de muscles où prédominent les fibres lentes (ces fibres sont prioritairement activées lors d'effort de faibles intensité) (411, 412).

Par contre, Kjaer et al. (351) n'ont pas trouvé d'altérations de la réponse neuroendocrinienne à l'effort chez des sujets sains au cours d'un effort prolongé sollicitant les membres inférieurs sous anesthésie péridurale, ce type d'anesthésie diminuant la conduction nerveuse afférente intrarachidienne. Ces résultats effectués sur des modèles différents sont en apparence contradictoires. Cependant, la conduction nerveuse n'a pas été complètement abolie par l'anesthésie et, d'autre part, l'effort musculaire sous anesthésie qui entraînait une diminution de la force musculaire a pu être compensé, soit par l'augmentation du recrutement du système nerveux central, soit par le recrutement supplémentaire de fibres musculaires glycolytiques

(évoqué par l'augmentation de la production de lactate musculaire), permettant ainsi de surpasser les effets du blocage rachidien (351).

Toutefois, le fait que des afférences musculaires puissent réguler la réponse hypophysaire en fonction du type de fibre (ou d'unité motrice) musculaire (oxydative ou glycolytique) est conforme avec la relation entre l'intensité de l'effort et la sécrétion de GH (387) ainsi qu'avec l'effet synergique de l'effort et de la stimulation pharmacologique des voies neuroendocriniennes sur la réponse hypophysaire. Des études ultérieures mettant en évidence les liens anatomiques sont nécessaires.

D'autre part, les mécanismes impliqués ne sont peut être pas uniquement nerveux mais peuvent également métaboliques.

#### **7.1.5.2 Rôle des signaux métaboliques :**

Kjaer et al. (351) ont montré que les efforts musculaires effectués en hypoxie augmentaient la concentration plasmatique de GH. Tarakada et al. (413) ont également mis en évidence que l'occlusion artérielle modérée d'un segment de membre pour un effort de faible puissance (25% de  $VO_2$  max) stimulait puissamment la sécrétion de GH. Cela démontre que la diminution des apports locaux en oxygène conditionne la réponse hypophysaire sans démontrer l'origine du ou des mécanismes responsables (humoral et/ou neurologique).

**En résumé :** Ces résultats renforcent l'hypothèse que la sécrétion de GH au cours d'un effort musculaire est modulée par le type d'unité motrice ou de fibre musculaire recruté ainsi que par les conditions d'apport en oxygène des fibres musculaires. Lorsque les fibres oxydatives sont préférentiellement sollicitées la sécrétion de GH serait faible voire freinée si on se réfère à certains travaux (411, 412). Au contraire, lorsque des fibres glycolytiques sont sollicitées (effort de forte intensité, hypoxie), la sécrétion hypophysaire de GH serait accrue.

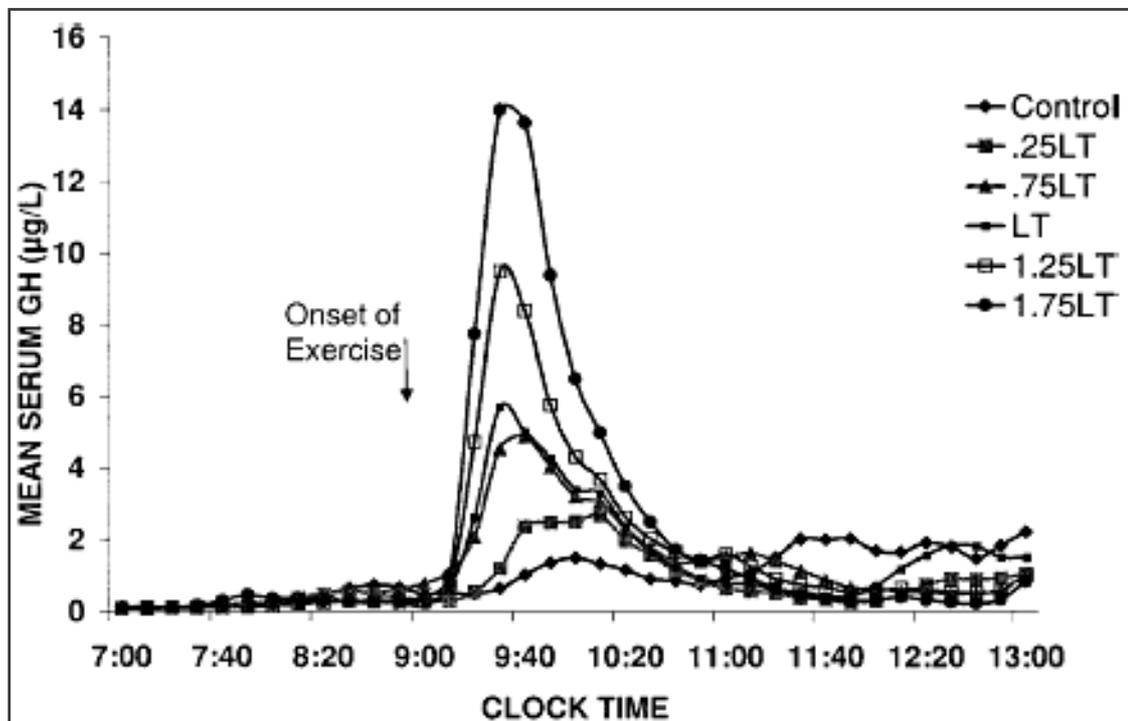
## **7.2 Facteurs influençant la concentration plasmatique de la GH lors d'un effort musculaire**

Comme cela a été décrit au chapitre IV (physiologie de l'axe somatotrope au repos), de nombreux facteurs sont susceptibles de moduler la sécrétion de GH. Au cours de l'effort musculaire, en plus du niveau d'entraînement, de l'intensité et de la durée de l'effort musculaire, les variations métaboliques mais aussi les caractéristiques des sujets explorés (âge, sexe, statut nutritionnel, composition corporelle) peuvent également altérer la réponse de l'axe somatotrope. Ces facteurs confondants sont responsables pour partie des différences observées entre certaines études (45, 414).

### 7.2.1 Rôle de l'intensité :

Elle semble un déterminant essentiel dans la réponse de la GH à un effort musculaire. En effet, quel que soit le mode d'exercice (endurance ou résistance), la réponse de l'axe corticotrope à l'effort est proportionnelle à son intensité (40, 387, 392, 415, 416). A durée égale ou à dépense énergétique égale, c'est l'intensité d'un effort qui détermine l'amplitude du pic plasmatique de GH (353, 408, 415-417). Comme pour l'activation de l'axe HHS, certains auteurs ont signalé qu'elle était proportionnelle à la concentration plasmatique de lactate, suggérant l'existence d'un « seuil GH » (404, 416, 418). Des travaux plus récents (387, 392) ont montré que l'augmentation de la concentration plasmatique de GH survenait même pour des efforts de faible intensité (25% de la  $VO_2$  au seuil lactique) alors que la concentration plasmatique de lactate ne variait pas par rapport au repos. La relative discordance entre ces études peut-être expliquée par la différence de sensibilité des kits de GH utilisés, la sensibilité de certains étant insuffisante pour mesurer des variations de concentration de GH de faible amplitude durant des efforts peu intenses.

Figure n° 18 : Effet de l'intensité de l'effort musculaire sur la concentration plasmatique de GH d'après (387)



LT : lactate threshold (seuil lactique).

L'intensité de l'effort a été normalisée par rapport à SL1. Les efforts réalisés avaient tous une durée de 30 minutes.

A  $VO_2$  constante chez un même sujet, le type de contraction musculaire (excentrique ou concentrique) (419) ou de groupe musculaire sollicités (membres inférieurs ou supérieurs) (420) entraîne des réponses de GH différentes. En effet, les efforts musculaires qui nécessitent le recrutement d'un plus grand nombre de fibres musculaires pour une puissance donnée (contractions concentriques) ou sollicitent des muscles composés d'un plus grand nombre de fibres glycolytiques (effort avec les membres supérieurs) entraînent également une augmentation plus importante de la concentration plasmatique de GH. Ces études apportent un argument supplémentaire pour l'existence d'un signal musculaire dans l'activation de l'axe hypothalamo-hypophysaire durant l'effort musculaire.

**En résumé**, l'augmentation de la concentration plasmatique de GH durant un effort dépend de l'intensité de l'effort. Celle-ci est donc corrélée positivement à la masse musculaire recrutée et à la contrainte métabolique exercée, notamment en termes de besoin en glucose.

## 7.2.2 Rôle de la durée :

### 7.2.2.1 Au court d'un effort en « endurance »

L'augmentation de la concentration plasmatique de GH apparaît 10 minutes après le début de l'effort (404). Le pic de GH est atteint à 40 minutes lors d'un exercice pour des  $VO_2$  supérieures ou égales à 75% de la  $VO_2$  au SL1 (392). Pour ces mêmes auteurs, ce délai est prolongé à 54 minutes pour des efforts d'intensité faible (25% de la  $VO_2$  au SL1). Il est donc possible de sous estimer le pic de GH pour des efforts musculaires inférieurs à 40 minutes et de faible intensité. L'absence de mesures suffisamment prolongées ou un espacement trop long entre les prélèvements après l'arrêt de l'effort peut également expliquer certaines discordances entre les études pour des efforts de faible intensité.

Après un effort de 30 minutes, le retour aux concentrations basales met environ 90 minutes quelle que soit son intensité (387). Des efforts de durée supérieure et suffisamment intenses (au moins 50 minutes au SL1), solliciteraient d'avantage l'axe somatotrope que des efforts plus courts et intenses (355). La baisse de la glycémie et/ou de la volémie pourraient alors expliquer ces variations.

### 7.2.2.2 Pour les efforts en « résistance »

La cinétique de la concentration plasmatique de GH suit le même schéma que pour les efforts d'endurance (45, 421). A intensité égale, le pic plasmatique de GH augmente avec la dépense énergétique totale réalisée (nombre de répétitions par série) et diminue si la durée de récupération entre les séries augmente (421).

**En résumé :** La modification du pic de concentration plasmatique de GH en fonction de la durée de l'effort dépend d'abord de l'intensité de celui-ci. A intensité égale, la concentration plasmatique de GH sera d'autant plus élevée que la contrainte métabolique (durée de l'effort, type de fibre musculaire sollicitée, type de contraction musculaire) le sera également. Les caractéristiques des sujets (niveaux d'entraînement et des stocks énergétiques avant l'effort) pourraient également jouer un rôle.

### 7.2.3 Effet de l'entraînement :

Alors que l'entraînement augmente les capacités cardiovasculaires, musculaires et la composition corporelle (amélioration du rapport masse maigre/masse grasse), ces effets sur la fonction somatotrope apparaissent minimes.

#### **Entraînement en endurance :**

Weltman et al. (422) n'ont pas constaté de modifications de la réponse à un effort musculaire après avoir entraîné des femmes euménorrhéiques pendant 1 an au-dessus du seuil lactique. Chez le sujet sportif jeune ou âgé entraîné, Zaccaria et al. (51) n'ont pas mis en évidence d'augmentation de la sécrétion de GH en réponse à un effort maximal sur ergocycle après 4 mois d'entraînement. Inversement, Sidney et al. (423) ont rapporté que l'entraînement pouvait restaurer la réponse de la GH à l'effort chez le sujet âgé.

Certains auteurs ont également montré que le niveau initial d'entraînement des sujets pouvait conditionner la réponse de l'axe somatotrope au cours d'un effort. Ainsi, les études comparant des sujets entraînés à des sédentaires montrent qu'à puissance égale, un effort produit un pic de GH plus faible chez les sujets entraînés (40, 424, 425). Cette différence disparaît si on analyse la réponse de GH en pourcentage de la  $VO_2$  max, l'intensité relative de l'effort étant alors supérieure pour les sédentaires. A l'arrêt d'un effort cycliste prolongé (4 heures), Vasankari et al. (426) ont cependant mis en évidence une concentration plasmatique de GH augmentée chez les sujets non entraînés. Il est possible que la différence entre ces sujets puissent s'expliquer par des stocks de glycogène plus faibles et un risque plus élevé de diminution de la glycémie chez les sujets non entraînés (43). Ces données ne sont pas précisées dans cette étude.

**Entraînement en résistance :** Les effets de l'entraînement en résistance sur la réponse de l'axe somatotrope à un effort aigu sont également discutés. Craig et al. (427) ont constaté une discrète augmentation du pic de concentration plasmatique GH chez des adultes jeunes en réponse à un effort en résistance après 12 semaines d'entraînement contrairement à Kraemer et al. (49).

Chez les sportifs surentraînés, il semblerait que cette réponse soit éteinte par rapport à celle de sportifs non fatigués (81, 365, 366).

#### 7.2.4 Influence du sexe :

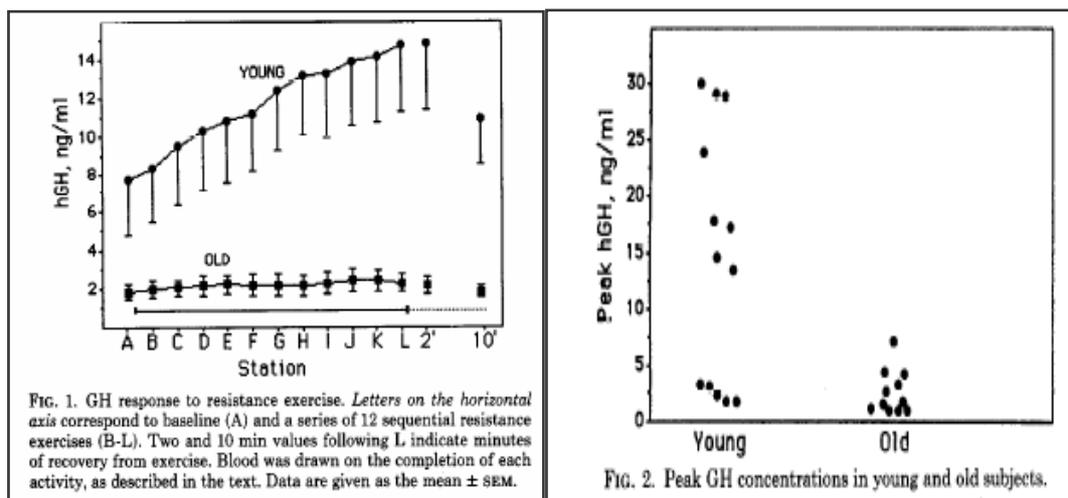
Bien que le schéma de réponse de la sécrétion de GH à l'effort soit comparable dans les deux sexes, il existe cependant quelques différences (45, 414). Chez la femme, la concentration plasmatique de GH est plus élevée au repos. Au cours de l'effort, il existe également une augmentation anticipatoire et une atteinte plus précoce du pic plasmatique de GH (201). Cependant l'amplitude de la réponse est supérieure chez l'homme et la masse de GH secrétée pendant l'effort (aire sous la courbe) est identique dans les 2 sexes (201, 428).

L'influence du statut menstruel sur la sécrétion de GH pendant un effort montre des résultats contradictoires selon les études [revue in (414)].

#### 7.2.5 Influence de l'âge :

Quels que soient le mode d'exercice et le niveau d'entraînement, la réponse de l'axe somatotrope est diminuée chez le sujet âgé (51, 429-431). Ces effets sont indépendants de la modification de la composition corporelle puisqu'ils surviennent également chez les sujets qui n'ont pas de surcharge pondérale (432). L'augmentation du tonus somatostatinergique n'explique pas complètement l'altération de la sécrétion avec l'âge puisque l'administration d'un agoniste cholinergique chez les sujets âgés (pyridostigmine) ne permet pas d'obtenir une sécrétion de GH identique à celle de sujets plus jeunes (430).

Figure 19 : Effet de l'effort musculaire sur la sécrétion de GH en fonction de l'âge, d'après (432)



### 7.2.6 Rôle de la composition corporelle :

Weltman et al. (226) ont montré que la réponse de la GH à l'effort était positivement corrélée à la VO<sub>2</sub> maximale rapportée au poids corporel et négativement corrélée au pourcentage de masse grasse. Toutefois cette diminution ne s'observerait que chez les sujets âgés puisque Holt et al. (432) ont montré que le pic plasmatique de GH était identique chez les sujets jeunes quel que soit le statut pondéral.

**En résumé :** Les effets de l'entraînement sur la sécrétion plasmatique de GH en réponse à un effort musculaire sont faibles et semblent dépendre des caractéristiques des sujets plutôt que du type d'entraînement. Les quelques discordances qui sont observées entre les études résultent probablement de l'hétérogénéité des sujets étudiés. Ainsi, l'âge semble l'élément régulateur le plus important puisque les sujets âgés ont une réponse atténuée à l'effort. Les mécanismes responsables de cette atténuation ne sont pas élucidés. Par ailleurs, le niveau d'entraînement semble également conditionner la réponse de l'axe somatotrope puisque le pic de GH est supérieur chez les sujets non entraînés notamment au cours d'un effort prolongé. La survenue d'une hypoglycémie (qui active la sécrétion de GH) étant plus importante chez les sujets non-entraînés.

Inversement, la diminution de la réponse observée chez les sportifs surentraînés renforce alors l'hypothèse d'une désadaptation hypothalamo-hypophysaire dont les mécanismes restent à préciser.

**Tableau n° X : Facteurs de variation de la réponse de la GH au cours d'un effort musculaire :**

	Conditions	Rôle sur le pic de sécrétion de GH
Intensité	Quel que soit le type d'effort Effet proportionnel l'intensité	+++
Durée	Effet de la dépense énergétique totale quel que soit le type d'effort Effet de l'hypoglycémie ou de l'hypovolémie (endurance > résistance)	++
Entraînement	Dépend du niveau d'entraînement initial (effet probable chez le sujet déconditionné ou désentraîné)	+ ou =
Sexe	Sécrétion + précoce chez la femme	=
Age	Sécrétion diminuée chez le sujet âgé	---
Composition corporelle	Effet prédominant chez le sujet âgé (rôle négatif de la masse grasse viscérale)	-

+ augmenté, +++ très augmenté ; - diminué, --- très diminué ; = inchangé

### 7.3 Facteurs influençant la concentration plasmatique de l'IGF-1 et des IGFBP lors d'un effort musculaire

#### 7.3.1 Effet de l'effort musculaire sur les concentrations plasmatiques d'IGF1

Alors que l'augmentation de la GH comparée aux valeurs basales au cours d'un effort musculaire aigu est constamment mise en évidence, les tableaux suivants montrent que ces résultats sont plus contrastés pour celles d'IGF1. En effet, parmi les 24 études présentées, 10 montrent une augmentation de la concentration plasmatiques de l'IGF 1 à l'arrêt de l'effort, 13 ne montrent pas de variations et 1 met en évidence une diminution. Cependant la variation des concentrations, lorsqu'elle est présente, ne dépasse pas 20% (valeurs non montrées dans le tableau).

**Tableau XIA: Effets de l'effort en endurance sur la concentration plasmatique d'IGF1**

Intensité	Sujets	Concentrations plasmatiques d'IGF1
Sous maximale (433)	Normaux + GHD	+
Seuil lactique (434)	Normaux	+
Maximale (435)	Sportifs élités	=
Sous maximale (436)	Normaux	=
Maximale (437)	Normaux	=
Maximale (262)	Sportifs élités	+
Marathon(438)	Sportifs	=
Maximale(439)	Normaux	=
Sous maximale prolongée (39)	Sportifs et entraînés	+ ou =
Sous maximale prolongée et discontinuée (283)	Adolescents normaux	--
Sous maximale prolongée (440)	Sportifs	+
Sous maximale prolongée(441)	Normaux	=
Sous maximale (260)	Normaux	+
Sous maximale(103)	Sportifs	+

+ augmenté, --diminué ; = inchangé

La disparité des résultats de ses études peut s'expliquer par les différences dans les protocoles utilisés : nombre de sujets inclus, type d'efforts (efforts en résistance, en endurance, en laboratoire ou en situation sportive), intensités d'effort (maximales, infra ou supraliminaires) et durée variable des efforts. Il existe également des facteurs confondants où les caractéristiques des sujets ne sont pas toujours contrôlées (variabilité de l'âge, du sexe, niveau d'entraînement ou du régime alimentaire précédent l'étude). La comparaison des aires sous la

courbe (intégration de la concentration plasmatique en fonction du temps) durant l'effort aurait été plus sensible pour mettre en évidence de faibles différences de production.

**Tableau XIB : Effets d'un effort musculaire en résistance sur la concentration plasmatique d'IGF1**

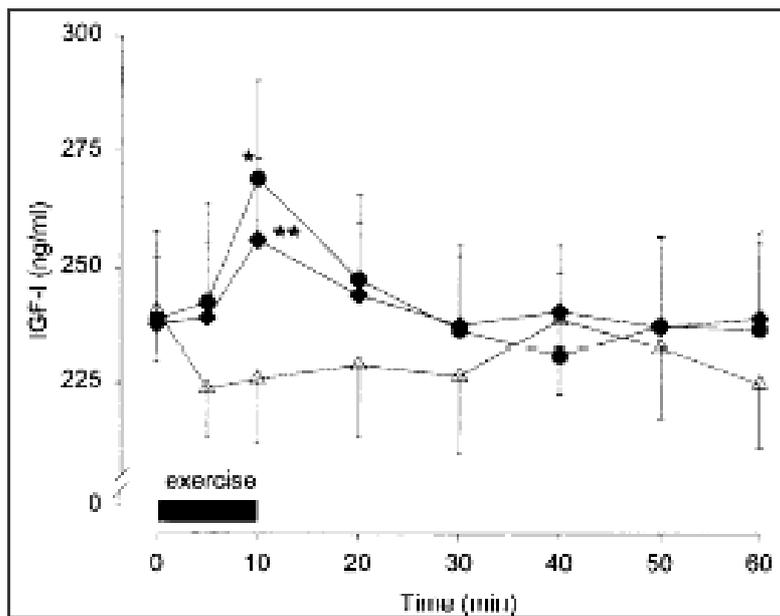
Intensité	Sujets	Concentrations plasmatiques d'IGF1
Elevée (442)	Agés	+
Faible(443)	Agés	=
Faible durée prolongée(353)	Agés	=
Elevée (354)	Agés	+
Variable (Kraemer, 1991 #11)	Jeunes	+x
Variable(415)	Jeunes	=
Elevée (444)		=
Elevée (149)	Jeunes	= + après apports en glucides et protidiques
Elevée (445)	Jeunes	=
Variable (446)	Jeunes	=

**Conclusion** : Certaines tendances semblent néanmoins se dégager :

- i) *L'influence de l'effort musculaire sur les concentrations plasmatiques d'IGF1 est modérée*, puisque les variations – quand elles sont mises en évidence - varient entre 10 et 20%.
- ii) *Le type d'effort exerce une influence modérée*. En effet, la répartition des effets semble équivalente pour les efforts d'endurance et de résistance puisque les concentrations plasmatiques d'IGF1 augmentent dans 3 études sur 7 impliquant des efforts en résistance, contre 6 sur 13 pour celles qui ont été réalisées avec des efforts en endurance.
- iii) *L'intensité dans les efforts en endurance semble accroître la concentration plasmatique d'IGF1* (Cf. figure n°20). En effet, parmi les six études qui ont mis en évidence une augmentation des concentrations plasmatiques d'IGF1, deux (39, 260) ont individualisé un effet des efforts supraliminaires lorsqu'ils étaient comparés à des efforts réalisés à des intensité plus faibles. Les 4 autres concernaient soit des épreuves exhaustives triangulaires (262, 440), soit des efforts continus supérieurs à SL1 (103, 434). Cependant, il est possible que ces variations soient simplement dues à l'hémoconcentration durant l'effort puisque celle-ci augmente de manière proportionnelle à l'intensité (447). Ainsi, Dall et al. (435) ont montré que les concentrations plasmatiques d'IGF1 ne variaient pas au cours de l'effort si elles après correction en fonction des variations de volume plasmatique.

iv) *L'influence des efforts musculaires prolongés est faible.* En effet, les efforts de durée supérieure ou égale à 60 minutes n'entraînent pas de variations des concentrations plasmatiques de l'IGF1 (39, 438, 440, 441, 445) ou entraînent une diminution (283, 440). Il faut noter que ces efforts ont été réalisés pour des intensités modérées (inférieures à SL1) (39, 283, 438, 440) ou pour des efforts plus intenses mais discontinus (440, 445).

Figure n°20 : Effets de l'intensité de l'effort musculaire sur la concentration plasmatique d'IGF1 d'après (260)



△ Valeurs de repos ; ● Effort intense ; ◆ Effort de faible intensité

v) *L'influence de l'entraînement sur la variation des concentrations plasmatiques d'IGF 1 à l'effort est difficile à préciser.* En effet, 2 études (262, 435) intéressant des sportifs élites ont montré des résultats opposés (Cf. tableau XIA). Cette apparente discordance peut s'expliquer d'une part par la différence d'adaptation à l'ergomètre des sujets testés et d'autre part par la correction des valeurs en fonction des variations du volume plasmatique dans l'étude de Dall et al. (435). En effet, ces auteurs ont testé des rameurs sur un ergomètre d'aviron. Ces sportifs étaient donc bien adaptés à cet ergomètre, alors que les sportifs explorés par Ehrnborg et al. (262) n'avaient pas, pour la plupart, été entraînés sur un ergocycle.

**En résumé,** l'augmentation des concentrations plasmatiques d'IGF1 en réponse à un effort musculaire est inconstante et de faible amplitude. Elle semblerait principalement provoquée par des efforts continus, plutôt intenses correspondant à une demande glucidique élevée. Le(s) mécanisme(s) de cette augmentation est (sont) incompris. Il est improbable qu'il corresponde

à une augmentation de la production hépatique GH-dépendante étant donné que le pic plasmatique d'IGF1 est contemporain ou précède celui de la GH (260). De plus, ce délai est insuffisant pour entraîner la production hépatique de transcrits d'IGF1 qui nécessite plusieurs heures (260). Enfin Bang et al. (433) ont observé une augmentation de l'IGF1 au cours de l'effort chez des sujets GHD. L'augmentation de la concentration plasmatique d'IGF1 pourrait provenir du relargage local hépatique ou musculaire. En effet, Brahm et al. (448) ont observé une augmentation de la concentration d'IGF1 dans la veine fémorale au cours d'un effort mobilisant les muscles de la cuisse.

Les modifications du volume de distribution de l'IGF1 au cours de l'effort pourraient également expliquer son augmentation dans la circulation sanguine. Bien que les variations de volume plasmatique n'aient pas été mesurées au cours de l'ensemble des études précitées, il est possible que l'hémoconcentration qui apparaît au cours et immédiatement après l'effort explique certaines augmentations, d'autant qu'elles sont inférieures à 20%. Enfin, au cours de l'effort, la clairance métabolique de l'IGF1 est diminuée car il existe une diminution du débit de filtration glomérulaire.

### **7.3.2 Effet de l'effort musculaire sur les concentrations plasmatiques des IGFBP**

#### **7.3.2.1 Variations des concentrations plasmatiques d'IGFBP1 :**

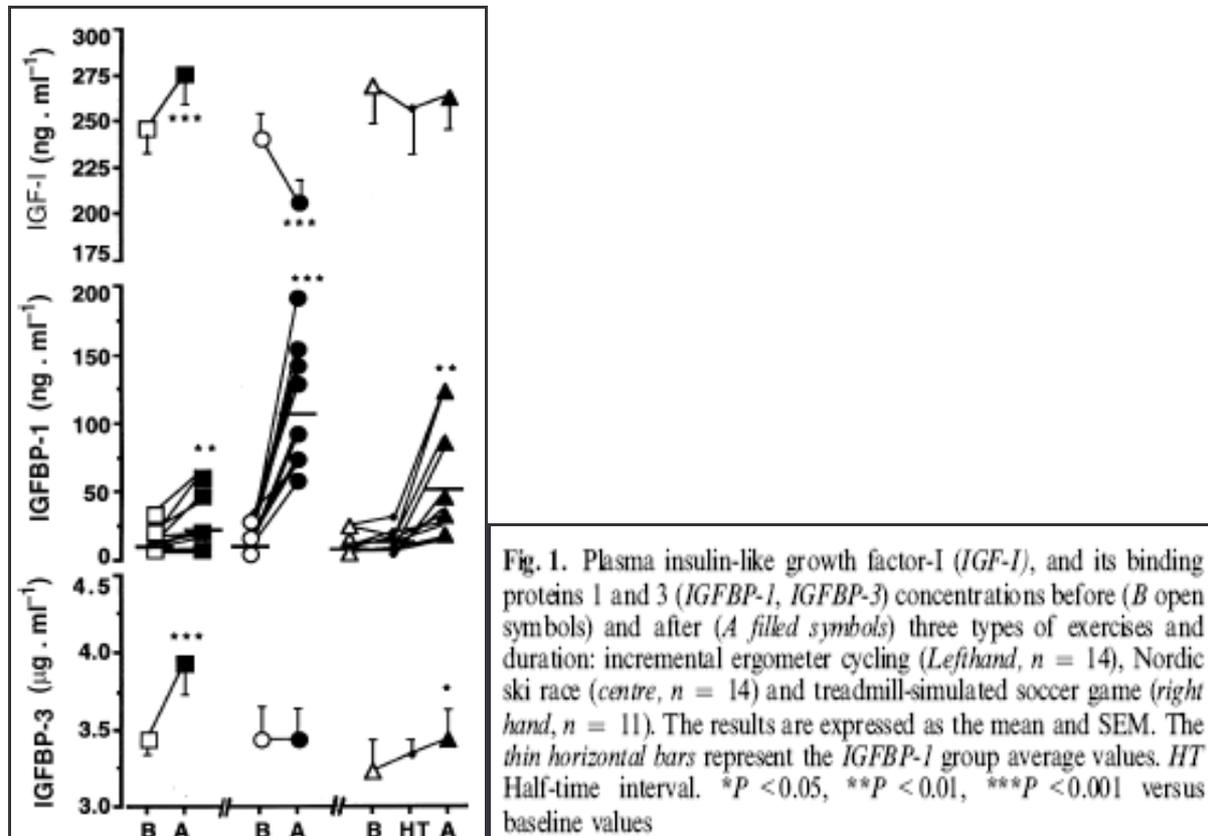
Pour des efforts brefs et maximaux en endurance, certains auteurs (435, 440) ont mis en évidence une augmentation d'IGFBP1 à l'arrêt, d'autres en post effort (103). A l'arrêt d'efforts continus et prolongés (durée supérieure ou égale à 3 heures) chez des sujets entraînés, il a été mesuré une augmentation pouvant atteindre 11,6 fois la valeur basale (438, 440). Seuls, Manetta et al. (449) n'ont pas constaté de variation des concentrations plasmatiques d'IGFBP1 lors d'efforts continus de 60 minutes réalisés à des intensités infra et supraliminaires. Une augmentation d'IGFBP1 a été également mesurée lors d'efforts discontinus et prolongés de 90 minutes, respectivement football et lutte (283, 440). Elle semble toutefois inférieure à celle qui a été observée lors d'effort continu et prolongés (440) (Cf. figure n° 21).

Ainsi, l'augmentation de la concentration plasmatique d'IGFBP1 est d'autant plus importante que l'effort est prolongé, même chez des sujets entraînés. Cette augmentation joue probablement un rôle clef dans le maintien de la glycémie dans ce type d'effort, permettant d'éviter que l'IGF1 libre provoque ou aggrave une hypoglycémie.

Le(s) mécanisme(s) physiologique(s) de cette augmentation pendant et après l'effort reste(nt) à élucider. En effet, l'action de l'insuline qui régule négativement la synthèse

d'IGFBP1 (Cf. chapitre IV) ne peut expliquer l'augmentation de la concentration d'IGFBP1 durant la récupération, la concentration plasmatique augmentant dès l'arrêt de l'effort (146) alors que la concentration d'IGFBP1 continue de croître (103).

Figure 21 : Effet du type d'effort sur les concentrations d'IGFBP d'après (440)



Ainsi, il existe ainsi une insulino-résistance d'origine hépatique qui a également été constatée chez les malades ayant des défaillances circulatoires (et/ou viscérales), situations où la demande métabolique, notamment en glucose, est extrême (450). Dans ces situations, l'élévation de l'IGFBP1 est proportionnelle à la sévérité de l'atteinte et est un facteur de mauvais pronostic. Cette insulino-résistance a été également mise en évidence chez l'animal, où des efforts prolongés réalisés sous clamp hyperinsulinique provoquaient l'augmentation de la concentration plasmatique d'IGFBP1 (451).

Les voies métaboliques régulant l'utilisation du glucose sont certainement impliquées. Ainsi, l'augmentation de l'activité de l'*adenosine monophosphate protein activated kinase* (AMPK) durant l'effort semble un des mécanismes responsable (452). Plusieurs expériences réalisées *in vitro*, chez l'animal ou chez l'homme, attestent cette hypothèse. En effet, l'activité de

l'AMPK chez des sujets qui effectuent un effort musculaire alors qu'ils ont des stocks de glycogène bas augmente plus que celle des sujets qui ont des stocks suffisants (453). Par ailleurs, l'incubation de cellules d'hépatome de rats avec un activateur de l'AMPK empêche l'inhibition de la sécrétion d'IGFBP1 par l'insuline (454). L'IL6 qui est une cytokine sécrétée en réponse à la déplétion en glycogène, active également l'AMPK durant l'effort, puisque l'élévation de sa concentration plasmatique est corrélée positivement avec l'activité de cette enzyme (453). De plus, chez des souris pour lequel le gène de l'IL6 a été invalidé, l'activation de l'AMPK durant l'effort est partiellement réduite (455).

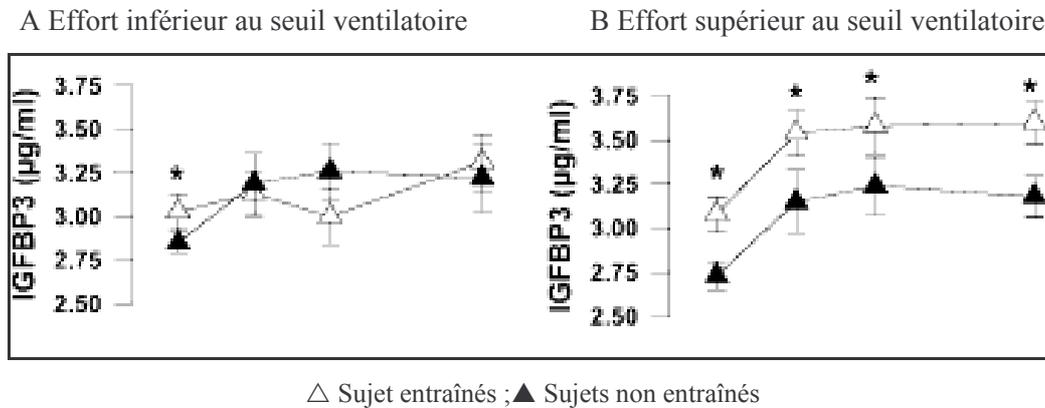
### 7.3.2.2 Variations des concentrations plasmatiques d'IGFBP3

Comme pour l'IGF1, les études qui ont analysé l'évolution des concentrations plasmatiques d'IGFBP3 au cours d'un effort montrent, soit une diminution (440) soit l'absence de variation (283, 435, 438, 440, 442), soit une augmentation de 10 à 35% par rapport à la concentration basale (260, 262, 353, 436, 439, 440, 445, 449). Ces variations sont de même sens et approximativement de même amplitude que celle des concentrations plasmatiques d'IGF1 excepté pour 4 études (283, 353, 436, 442).

L'effet d'un effort musculaire sur les concentrations plasmatiques d'IGFBP3 apparaît donc modéré et peut être lié aux simples variations du volume plasmatique (voir plus haut). L'intensité de l'exercice semble jouer un rôle stimulateur (103, 260, 439, 440, 449) alors que les études ayant utilisé des efforts prolongés n'ont pas mis en évidence de modifications (283, 438, 440), voire une diminution pour des efforts en ski de fond (440).

Certaines de ces différences pourraient être expliquées par le manque de sensibilité des kits de dosage à reconnaître les différents fragments d'IGFBP3. En effet, la plupart des immunodosages reconnaissent l'IGFBP3 totale ainsi que les fragments protéolysés biologiquement inactifs et de poids moléculaire inférieur. Certains auteurs (260, 283) ont montré qu'il existait une augmentation de la protéolyse d'IGFBP3 proportionnelle à l'intensité de l'effort. Inversement, Dall (435) n'ont pas mis en évidence ce phénomène chez des sportifs mais il s'agissait de sportifs très entraînés. Lorsqu'IGFBP3 est protéolysée, son affinité pour IGF1 diminue, entraînant ainsi une augmentation de la biodisponibilité de l'IGF1 et, par voie de conséquence, de sa clairance métabolique. Ce mécanisme pourrait expliquer la diminution des concentrations plasmatiques d'IGF1 qui ont été observées environ 24 heures après un effort musculaire (438, 441, 446).

Figure n° 22 : Influence de l'intensité de l'effort et du niveau d'entraînement sur la concentration plasmatique d'IGFBP3 d'après (39)

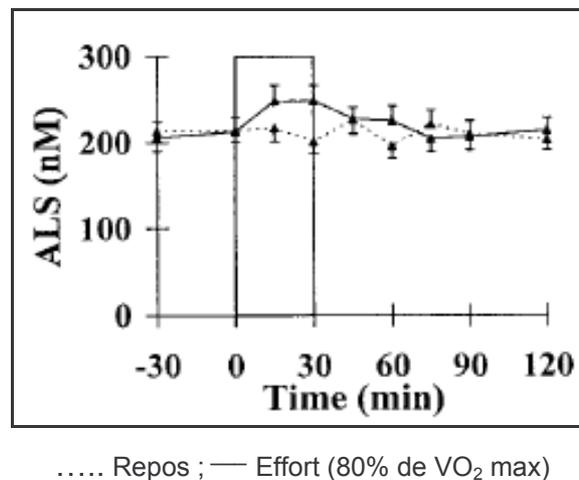


### 7.3.2.3 Variations des concentrations plasmatiques des autres IGFBP.

La concentration plasmatique d'IGFBP2 a été mesurée au cours de 4 études (103, 435, 436, 456). Aucune variation n'a été enregistrée au cours de l'effort. Seule, une étude (445) a constaté une augmentation durant la récupération. Il semble donc que la concentration plasmatique de cette protéine ne subisse pas de variations importantes pendant et immédiatement après l'effort.

Au cours d'un effort exhaustif, il n'a pas été mis en évidence de variations de la concentration plasmatique d'IGFBP4, mais une augmentation de 18 % de celle d'IGFBP6 (435). Ainsi, l'augmentation d'IGFBP6 qui a une affinité supérieure pour IGF2 (104) pourrait jouer un rôle tampon à l'exercice afin de limiter les éventuels effets biologiques d'IGF2.

Figure n°23 : Influence de l'effort sur la concentration plasmatique d'ALS d'après (103)



#### 7.3.2.4 Variations de la concentration plasmatique d'ALS

Seules 2 études ont montré des résultats différents. Wallace et al. (103) ont mis en évidence une augmentation de la concentration plasmatique de cette protéine de 20% lors d'un effort supraliminaire de 30 minutes (Cf. figure n°21), alors que Nindl et al. (445) ont trouvé une diminution. Des études ultérieures sont donc nécessaires pour préciser le rôle de l'effort musculaire sur la concentration plasmatique d'ALS.

#### 7.3.2.5 Hypothèses sur le rôle des IGFBP dans le maintien de l'homéostasie glycémique pendant l'effort.

Les IGFBP pendant l'effort semblent, comme au repos (104), réguler la fraction libre d'IGF1 afin d'augmenter ou de limiter ses effets cellulaires ou métaboliques (augmentation de l'utilisation périphérique du glucose). Au cours des efforts intenses et brefs, l'accroissement de la biodisponibilité de l'IGF1 qui pourrait résulter de la protéolyse des IGFBP - notamment celle d'IGFBP3 qui contient 80% de l'IGF1 circulant (104) - permettrait ainsi d'augmenter les apports glucidiques aux muscles. Inversement, durant les efforts prolongés, la réduction de la protéolyse d'IGFBP3 chez le sujet entraîné serait un mécanisme adaptatif diminuant ainsi le risque d'hypoglycémie (43). De la même façon, l'augmentation de la concentration plasmatique d'IGFBP1 au cours des efforts prolongés éviterait l'apparition d'hypoglycémie en réduisant la biodisponibilité de l'IGF1 quand les stocks de glycogène hépatique sont bas.

#### 7.4 Effet de l'entraînement sur la concentration plasmatique basale d'IGF1

Les tableaux suivants montrent la disparité des effets de l'entraînement sur les concentrations plasmatiques d'IGF1. Sur les 23 études longitudinales présentées, 7 ont mis en évidence une augmentation, 8 l'absence de modification et 8 une diminution. Plusieurs facteurs sont susceptibles d'expliquer cette variabilité :

- Le type d'entraînement utilisé (endurance ou résistance),
- Le niveau d'entraînement des sujets participant à l'étude ainsi que l'intensité de l'entraînement réalisé,
- La durée de l'étude,
- Le statut nutritionnel à l'inclusion et pendant l'étude,
- L'âge des participants,
- Le sexe.

### 7.4.1 Influence du type d'entraînement

**Tableau XIIA : Effet de l'entraînement en endurance sur la concentration plasmatique d'IGF1**

Type d'Entraînement	Durée	Sujets	Concentrations plasmatiques basales
Cyclisme (457)	3 semaines	Sportifs élités	+
Marathon (458)	Etude transversale	Hommes âgés	=
Handball (459)	4 semaines	Sportifs élités	-- à 2 semaines, = à 4 semaines
Endurance (460)	5 semaines	Enfants	+
Endurance (461)	5 semaines	Adolescents	--
Cyclisme (39)	Etude transversale	Sujets jeunes	+ chez les sujets entraînés
Cyclisme (449)	Etude transversale	Sujets jeunes et âge moyen	+ chez les sujets entraînés
Cyclisme (462)	17 semaines	Sujets jeunes	+
Mixte avec ou sans restriction calorique(463)	1 semaine	Sujets jeunes	-- sujets en restriction calorique
Mixte avec restriction calorique (464)	4 jours	Sujets jeunes	--
Endurance (465)	8 semaines	Sujets âgés	+
Athlétisme (466)	2 semaines	Sujets jeunes	+
Natation (467)	17 semaines	Sujets jeunes	+
Mixte (468)	12 semaines,	Sujets jeunes	-- 4 semaines. = à 11 semaines
Athlétisme (469)	5 semaines	Enfants	--
Cyclisme (51)		Sujet jeunes et âges moyens	=

+ Augmentation ; -- diminution ; = absence d'effet

L'analyse des tableaux XIIA et XIIB fait ressortir que les effets de la pratique d'endurance sont très contrastés. En effet, sur les 13 études qui ont concerné un entraînement à dominante d'endurance, 6 (457, 460, 462, 465-467) ont mis en évidence une augmentation de la concentration plasmatique d'IGF1, 2 (51, 459) aucune variation et 5 une diminution (461, 463, 464, 468, 469) parfois transitoire (459, 468). Trois études concernaient des sujets en restriction calorique (461, 463, 464, 468, 469). Au contraire, parmi les travaux qui ont concerné un entraînement de type « résistance », 1 seul (470) a mis en évidence une augmentation de la concentration plasmatique basale d'IGF1, 6 l'absence d'effets (49, 364, 442, 471-473) et 3, une diminution (382, 474, 475). Il faut signaler que les 3 dernières études étaient réalisées alors que les sportifs présentaient des signes de restriction calorique pouvant expliquer la diminution de la concentration plasmatique d'IGF1 (238).

**Tableau XIIB : Effet de l'entraînement en résistance sur la concentration plasmatique d'IGF1**

Type d'Entraînement	Durée	Sujets	Variations des concentrations plasmatiques basales
Résistance (442)	8 semaines	Sujets âgés	=
Résistance (471)e	26 semaines	Sujets âgés	=
Résistance (470)à 2 volumes différentes	25 semaines	Adultes H et F	↑ 13 semaines
Gymnastique (472)	42 semaines	Enfants	=
Gymnastique (382)	16 semaines	Enfants	--
Gymnastique (474)	3 jours	Enfants	--
Résistance (49)	10 semaines	Sujets âgés vs. Sujets jeunes	=
Résistance (473)	16 semaines	Sujets âgés	=
Résistance (364)	2 semaines	Adultes très entraînés	=
Lutte (475)	17 semaines	Adolescents	--
Activité physique (476)	Études transversale	Sujets âgés	+ chez entraînés

+ Augmentation ; -- diminution ; = absence d'effet

**En résumé :** L'entraînement en endurance semble modifier de manière plus importante les concentrations plasmatiques d'IGF1 que l'entraînement en résistance. La restriction calorique semble un élément important dans la diminution des concentrations plasmatiques d'IGF1, en particulier dans les sports d'endurance qui sont associés à une dépense énergétique supérieure à celle des sports de résistance et donc une source d'altération de la balance énergétique.

#### 7.4.2 Influence du niveau initial d'entraînement :

Certaines études ont concerné des sportifs très entraînés voire élités, d'autres ont inclus des sujets peu, voire non entraînés. Ces différences sont susceptibles de modifier la concentration plasmatique d'IGF1 (dépense énergétique, sollicitations différentes de l'axe somatotrope lors des efforts).

Parmi les études concernant des sportifs très entraînés, deux (457, 467) ont mis en évidence une augmentation de la concentration plasmatique d'IGF1, deux l'absence d'effet (459, 468) et trois une diminution (382, 474, 475). Il faut remarquer que les 3 dernières concernaient des gymnastes ou lutteurs pour lesquels la maîtrise du poids et/ou de la silhouette sont des éléments importants de la performance (10).

Les sujets peu entraînés étudiés par Rosendal et al. (468) avaient une diminution de la concentration plasmatique d'IGF1 plus prononcée et prolongée par rapport aux sujets très entraînés. Manetta et al. (39) ont trouvé que seuls les sujets entraînés augmentaient les concentrations plasmatiques d'IGF1, alors que Zaccaria et al. (51) n'ont pas trouvé de différence.

Les effets de l'intensité de l'entraînement sur la concentration plasmatique d'IGF1 ont été analysés par Borst et al. (471). Ceux-ci n'ont pas mis en évidence de différence entre les sujets ayant un entraînement en résistance intensifs et de faible intensité.

A notre connaissance, il n'y a pas d'études qui ont évalué les concentrations plasmatiques d'IGF1 chez les sujets surentraînés. Hug et al. (477) proposent la mesure d'un ratio IGF1/cortisol ou IGF1/IGFBP3 qui diminuerait en cas de surentraînement.

#### **7.4.3 Influence de la durée de l'entraînement**

Parmi les études précitées, la durée des observations variait de 3 jours (474) à 42 semaines (472). Si nous séparons de manière arbitraire les études d'observations courtes (durée inférieure ou égale à 6 semaines) des études d'observations longues (durée supérieure à 6 semaines), nous constatons plutôt une tendance à la diminution de la concentration plasmatique d'IGF1 à court terme dans 5 études ((461, 463, 464, 469, 474). Seules 3 études ont montré une augmentation (457, 460, 466), et 2 l'absence de variation (364, 459).

Il est intéressant de noter que 2 auteurs (459, 468) ont décrit une évolution biphasique de la concentration plasmatique d'IGF1 avec une diminution initiale (respectivement à 2 et 4 semaines) puis un retour à l'état basal. Ce phénomène n'a pas été mis en évidence par d'autres auteurs (467, 470) mais les dosages intermédiaires étaient effectués plus tardivement (13 semaines).

Concernant les études à long terme, 4 ont montré une augmentation (449, 465, 467, 470), 6 aucune variation (49, 51, 442, 471-473) et 3 une diminution (382, 468, 475).

**En résumé :** Il est difficile de conclure sur l'effet de la durée de l'entraînement sur les concentrations plasmatiques d'IGF1.

#### **7.4.4 Influence du statut nutritionnel**

Si l'influence du déficit énergétique sur les concentrations plasmatiques d'IGF1 est essentielle chez le sujet au repos (238), elle l'est également lors de l'entraînement. En effet, parmi les 8 études qui ont mis en évidence une diminution des concentrations plasmatiques d'IGF1, 2 (463, 464) concernaient des sujets auxquels un déficit calorique était imposé, 2 autres des sportifs ayant une balance calorique négative (382, 474). Ces disciplines sportives sont soit des sports jugés (382, 474), où l'esthétique corporelle prédomine, soit des sports à catégorie de poids (475). De plus, ces disciplines sportives (lutte, gymnastique ...) sont plus fréquemment associées à des conduites alimentaires restrictives (9, 10).

Les 4 études restantes (461, 469) concernaient un entraînement en endurance qui peut entraîner un accroissement de la dépense énergétique non compensé. Cette hypothèse ne peut

être confirmée, les variations de poids n'étaient pas précisées dans ces travaux. A l'inverse, la surnutrition de sujet entraînés ne semble pas entraîner de modifications de l'IGF1 à court terme (463).

#### 7.4.5 Influence de l'âge

Les études qui ont intéressé les sujets âgés n'ont pas montré de diminution des concentrations plasmatiques d'IGF1 avec l'entraînement. Parmi les études qui employaient un entraînement en résistance, seule une a mis en évidence une augmentation de la concentration plasmatique d'IGF1 (470). Celles qui utilisaient l'endurance ont montré, soit une augmentation (465), soit l'absence de variation (51). Lorsque des études ont comparé l'influence de l'entraînement en fonction de l'âge (51, 465), celles-ci n'ont pas mis en évidence de différence de la variation des concentrations plasmatiques d'IGF1.

#### 7.4.6 Influence du sexe

Deux études (465, 470) mentionnent que seuls les hommes, en l'occurrence des sujets âgés, présentent une augmentation des concentrations plasmatiques d'IGF1 avec l'entraînement.

#### 7.4.7 Synthèse :

Les variations des concentrations plasmatiques d'IGF1 avec l'entraînement sont contrastées, particulièrement dans les pratiques d'endurance, des variations de plus de 50% ayant même été observées chez des sportifs de haut niveau (457, 467). L'activité de l'axe somatotrope étant en particulier influencée par la composition corporelle et l'équilibre de la balance énergétique au moment où sont réalisés les prélèvements, il est donc vraisemblable que les caractéristiques initiales et finales des sujets sont une source de variation de la concentration plasmatique d'IGF1 au cours de l'entraînement.

**Diminution des concentrations plasmatiques d'IGF1 :** Les dépenses énergétiques élevées non compensées lors de la pratique intensive des sports d'endurance notamment ou par la mise en place de stratégie de réduction du poids (sports à dominance esthétique ou à catégorie de poids) semblent être les éléments essentiels pour expliquer la diminution des concentrations plasmatiques d'IGF1. Cette diminution s'associant à une perte de masse maigre et des effets anabolisants de l'IGF1. Elle peut être un facteur de surentraînement. Cependant, la diminution des concentrations plasmatiques d'IGF1 peut être transitoire (459, 468). Elle peut être également la conséquence d'un effort musculaire proche (Cf. paragraphe sur les effets de l'effort musculaire sur la concentration plasmatique d'IGF1) ne traduisant pas forcément la présence d'un déficit énergétique. En effet cette diminution pourrait être due à

l'augmentation de la clairance métabolique de l'IGF1 (protéolyse d'IGFBP3) ou la diminution de sa production hépatique provoqué par l'inactivation du GHR secondaire à la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (Cf. chapitre IV, § IGF1 et exercice aigu) ou à une modification du volume de distribution par augmentation du volume plasmatique (447).

**Augmentation des concentrations plasmatiques d'IGF1 :** Un statut nutritionnel initial déficitaire (particulièrement chez les sujets âgés) ou une composition corporelle altérée (surcharge pondérale avec augmentation de la masse grasse) pourraient expliquer les variations positives des concentrations d'IGF1 avec l'entraînement. En effet, la reprise de l'activité physique entraînant une augmentation des apports caloriques chez des sujets partiellement dénutris ou, surtout les effets de la pratique régulière d'une activité physique sur la composition corporelle améliore l'activité de l'axe somatotrope (49, 460, 465, 470). Les variations qualitatives et quantitatives des apports caloriques ainsi que les modifications de la composition corporelle n'étant pas précisées dans la plupart des études, il est difficile d'apporter une conclusion formelle.

Chez les sportifs très entraînés, l'amélioration de la composition corporelle entre le début et la fin d'une période d'entraînement pourrait également expliquer l'augmentation de la concentration plasmatique d'IGF1, bien que l'effet propre de l'activité physique ou le rôle de l'utilisation de produits dopants ne puissent être exclus.

## **7.5 Effet de l'entraînement sur la concentration plasmatique des IGFBP**

### **7.5.1 Complexe ternaire :**

L'évolution de la concentration plasmatique d'IGFBP3 avec l'entraînement est globalement parallèle à celle de l'IGF1. Cette évolution apparaît logique puisque la sécrétion d'IGFBP3 est également régulée par la GH. Cependant, 4 études sur les 15 qui l'ont évaluée, ont montré une discordance (49, 460, 465, 470). Ces différences peuvent s'expliquer en partie par l'existence d'une cinétique et d'une amplitude différentes entre IGFBP3 et IGF1 en réponse à une stimulation par la GH ou lors d'une carence nutritionnelle (102). La protéolyse d'IGFBP3, en particulier chez le sujet non entraîné (468) pourrait également expliquer cette baisse, d'autant plus que les kits de dosage utilisés reconnaissent à la fois les l'IGFBP3 intacte et les fragments protéolysés, donnant ainsi une valeurs normale d'IGFBP3 alors que la concentration plasmatique d'IGF1 est diminuée.

Par ailleurs, il n'a pas été mis en évidence de variation de la concentration plasmatique d'ALS (464) chez des sujets en restriction calorique après un entraînement de 4 jours.

### 7.5.2 IGFBP1 :

La concentration plasmatique d'IGFBP1 était augmentée chez des sportifs entraînés (449, 457) ou en restriction calorique (463). Au contraire, dans d'autres études, elle n'a pas varié pour des sujets entraînés en résistance (470, 471) ou en endurance (460, 461, 465, 467, 469). Lors d'études transversales (39, 458), la concentration plasmatique d'IGFBP1 était augmentée chez les sujets entraînés.

Cette protéine étant régulée négativement par l'insuline, il est possible que l'augmentation de sa concentration plasmatique soit la traduction de l'amélioration de l'insulinosensibilité provoquée par la pratique régulière de l'activité physique (39) mais également d'une hypo-insulinémie relative due à un déficit de la balance énergétique (80, 463). Elle pourrait également refléter un effort prolongé trop proche du prélèvement (438).

### 7.5.3 Autres IGFBP

Le dosage d'IGFBP2 a été peu réalisé et montre des résultats divergents. Sa concentration plasmatique augmenterait chez les sujets très entraînés (468) ou ne serait pas influencée par un entraînement en endurance quelle que soit la variation de la concentration plasmatique de l'IGF1 (460, 461).

IGFBP4, IGFBP5, IGFBP6 ont été dosées par un seul auteur sans montrer de variations significatives (460). Des études ultérieures sont donc nécessaires pour apprécier le rôle de l'entraînement sur la variation des concentrations plasmatique de ces IGFBP.

**En résumé :** Les effets de l'entraînement sur la concentration plasmatique d'IGF1 et des protéines porteuses sont parfois discordants. L'équilibre de la balance énergétique avant, pendant et à l'issue de la période d'observation, semble être un facteur majeur de variation de leur concentration et n'est pas toujours précisé ou contrôlé. En raison de l'importance de la dépense énergétique qu'il provoque, l'entraînement en endurance semble le plus propice pour entraîner les modifications de l'axe somatotrope. Cependant, il n'est pas possible de conclure sur l'existence d'un effet propre de l'entraînement sur la concentration plasmatique basale d'IGF1.

En l'absence de restriction calorique sévère, ces variations sont de faible amplitude, excepté dans deux études qui concernaient des sportifs de haut niveau et pour lesquelles les effets du dopage ne pouvaient être écartés (457, 467). La durée de l'entraînement n'apparaît pas comme un facteur susceptible de modifier de façon importante les concentrations basales d'IGF1.

Ainsi, le dosage sérique de l'IGF1 semble donc un paramètre de choix soit dans le suivi biologique réglementaire des sportifs, soit dans l'exploration des sportifs symptomatiques (fatigue, amaigrissement, ...).

Les concentrations plasmatiques des protéines porteuses évoluent parallèlement à celle de l'IGF1, excepté pour IGFBP1. En effet, l'élévation de sa concentration semble plutôt indiquer la proximité d'un effort prolongé et intense et/ou d'un entraînement intensif plus ou moins bien compensé sur le plan calorique.

## 8 *Chapitre VIII : Effets de l'activité physique sur la régulation du remodelage osseux*

### 8.1 Effets de l'effort musculaire

Les études citées dans le tableau XIII montrent que l'effort musculaire modifie peu les concentrations plasmatiques des marqueurs du remodelage osseux. Ces variations fluctuent entre 8% (261) à 15% (478). Cette influence semble plus marquée pour les marqueurs du collagène de type I que pour les paramètres non collagéniques tels que l'ostéocalcine dont la concentration apparaît constante durant l'effort (261, 262, 478). Par contre, les effets sur le remodelage osseux se prolongent en post-effort avec un discret découplage en faveur de l'ostéoformation (478-480).

### 8.2 Facteurs influençant les variations des marqueurs du remodelage osseux durant l'effort

La durée de l'effort, le niveau d'entraînement et le statut nutritionnel apparaissent les facteurs qui font varier ces concentrations. La comparaison des effets du type d'effort est limitée car peu d'études ont été réalisées avec des efforts en résistance (478, 481). Une durée minimale d'effort apparaît nécessaire pour entraîner une modification des concentrations plasmatiques des marqueurs osseux puisqu'un effort de 30 secondes, même supramaximal n'a modifié ni les marqueurs collagéniques, ni les non-collagéniques (481).

L'intensité modifie la concentration plasmatique de la PTH (482-484), apparemment sans effet seuil, puisque celle-ci augmente même pour des efforts peu intenses (485). Inversement, elle ne modifierait pas les concentrations plasmatiques d'ostéocalcine ou d'ICTP (483). Par contre, le niveau d'entraînement en endurance favoriserait l'augmentation en des concentrations d'ostéocalcine en post effort (485).

Ehrnborg et al. (262) ont mis en évidence une augmentation supérieure de l'ICTP chez les sportifs élités masculins. L'existence de ce dimorphisme sexué doit être confirmée par d'autres études, d'autant que cette différence n'apparaît pas pour les autres paramètres du remodelage osseux.

Enfin, le statut nutritionnel influencerait sur le sens de la variation des marqueurs du remodelage osseux durant l'effort. En effet, chez des sujets soumis à une restriction calorique, Ihle et al. (307) ont mis en évidence une diminution de la concentration plasmatique des marqueurs de l'ostéoformation (ostéocalcine, PICP) et une augmentation de l'excrétion urinaire du NTx (marqueur de résorption) en réponse à un effort d'endurance.

**Tableau XIII : Effet de l'effort musculaire sur le remodelage osseux**

Type d'effort	Population testée	Effets sur le remodelage osseux
Résistance (478)	H non entraînés	Résorption -- (ICTP, TRAP, Dpd) Ostéoformation -- (B ALP) ou = OC
Endurance (482)	10 H ; 10F (29 ans) niveau d'entraînement hétérogène	Résorption + (ICTP) Ostéoformation + (OC, T ALP) PTH + fonction de l'intensité
Endurance (448)- Effort localisé	6 H ; 6F (21 à 36 ans)	Résorption -- ICTP Ostéoformation --PICP ou = OC PTH =
Endurance sous maximal (486)	18 sportifs élités (11 H +7 F)	Ostéoformation + (B ALP) en post exercice Résorption -- (TRAP) en post exercice
Maximal (262)et variable selon la discipline sportive	83 H ; 37 F sportifs élités	Résorption + ICTP Ostéoformation = (PICP)
Endurance sous maximal (307)	29 F +/- restriction calorique	Résorption + (NTX u) Ostéoformation -- (OC, PICP)
Résistance bref (481)	7 H Entraînés	Résorption = (ICTP) Ostéoformation = (OC) Ca <sup>++</sup> + PTH =
Endurance sous maximal prolongé (480)	17 H	Résorption = (ICTP) Ostéoformation + (PICP)
Endurance sous maximal (485)	9 H Entraînés 10 H sédentaires	Ostéoformation (OC) > entraînés Ca <sup>++</sup> -- post exercice PTH + post exercice
Endurance (483)e	8 H	Résorption = (ICTP) Ostéoformation = (OC) PTH +
Endurance sous maximale prolongé (484)	9 H sportifs 6 H non entraînés	PTH corrélée + à l'intensité
Endurance sous maximal prolongé (479)	14 F jeunes euménorrhée	Résorption + (ICTP) Ostéoformation -- (PICP) Ca <sup>++</sup> -- PTH + (Dosages à 24 et 72 heures)
Endurance sous maximal (261)	17 H jeunes ENT	Résorption + (ICTP) Ostéoformation -- (PICP, B ALP) = OC

+ Augmentation ; -- diminution ; = absence d'effet

### 8.3 Effets de l'entraînement

L'augmentation de la contrainte osseuse a un effet trophique sur le squelette (Cf. § 5.3.1). Il existe donc une certaine plasticité du tissu osseux qui permet son adaptation aux sollicitations induites par la pratique sportive. Le tableau XIV présente les modifications du remodelage osseux induites par l'entraînement selon le type de pratique, l'intensité, le niveau de pratique, le statut hormonal ou le statut nutritionnel.

#### 8.3.1 Effet du type d'entraînement

Les données des études sont présentées dans le tableau XIV.

**8.3.1.1 Entraînement en endurance :**

Parmi les 6 études intéressant une activité d'endurance, 3 (487-489) montrent un découplage du remodelage osseux au bénéfice de l'ostéoformation, 2 l'absence de modifications (490, 491) et 1 la diminution du remodelage osseux (492).

En résumé, l'entraînement en endurance aurait un effet ostéoformateur par diminution des marqueurs de résorption (487, 489, 492). Cependant, 2 études (488, 490) qui ont constaté une évolution opposée entre certains marqueurs d'ostéoformation (OC et B ALP) limite la portée de cette conclusion.

**8.3.1.2 Entraînement en résistance :**

Il semble que l'entraînement en résistance ait un effet positif sur l'ostéoformation puisque 5 études (489, 493-496) ont montré une augmentation des marqueurs sériques contre 3 l'absence d'effets (491, 497, 498). Son effet sur les marqueurs de résorption est plus contrasté puisque ces études ont mis en évidence une diminution (493, 498), l'absence de modification (491) ou une augmentation (489, 495). Globalement, l'entraînement en résistance comme pour l'endurance, aurait un effet ostéoformateur net.

**8.3.1.3 Effets de l'activité physique avec impacts :**

La pratique des sports avec impacts semble avoir un effet positif sur les marqueurs d'ostéoformation (17, 499) par rapport à une population contrôle ou moins entraînée. Seul Shibata et al. (488) n'ont pas mis en évidence d'effets supplémentaires des impacts. De plus, la pratique intensive (footballeurs professionnels) ou la pratique de sports à impacts élevés (17) n'entraîne pas d'effets additionnels, suggérant un effet dose/réponse de type asymptotique des impacts sur les marqueurs du remodelage osseux.

**8.3.1.4 Effet de la durée de l'entraînement :**

Les effets de l'activité sportive sur les marqueurs du remodelage osseux semblent transitoires. En effet, l'analyse des données de la littérature montre que les modifications des marqueurs sériques apparaissent pour les études de quelques semaines (487, 489, 493, 496, 498), alors qu'ils ne sont pas modifiés pour les études de plus longue durée (488, 490, 491, 497, 500, 501), excepté pour celle de Lohman et al. (494). Ainsi, les modifications des concentrations du remodelage osseux seraient le reflet d'une réponse adaptative à court terme aux sollicitations exercées par l'activité physique sur le squelette.

**Tableau XIV : Effets de l'entraînement sur les marqueurs du remodelage osseux**

Type d'entraînement	Sujets étudiés	Effets sur le remodelage osseux
Différentes disciplines sportives (491)	50 résistance (23F, 27H) 61 endurance (30F, 31H) 55 sujets contrôles	Résorption = Ostéoformation =
Endurance (492)	62 H jeunes dont 32 sujets entraînés 30 sujets contrôles	PTH -- sujets entraînés Résorption-- Ostéoformation --
Effet des sports à impacts élevés (17)	41 F sportives jeunes (sports avec impacts différents)	Ostéoformation > sports d'impact, Résorption =
Résistance (497)	31 adolescents non pubères. 50 contrôles	Ostéoformation =
Endurance (487)	20 adolescents entraînés 18 contrôles	Résorption -- Ostéoformation + sujets entraînés
Endurance (502) I	50 F élite – de 36 ans Influence du statut menstruel	Ostéoformation -- aménorrhée et corrélée avec IMC
Endurance (500) Influence du statut œstrogénique	30 F 25 ans dont 11 oligoaménorrhée 10 euménorrhée 9 contraception orale	Résorption = Ostéoformation -- contraception orale PTH + euménorrhée
Résistance (495)	19 H haltérophiles actifs 15 H anciens haltérophiles 38 contrôles	Ostéoformation + haltérophiles actifs
Mixte (503)	24 H professionnels 19 H amateurs élites 20 H amateurs 27 H contrôles	Résorption et ostéoformation + sujets entraînés
Mixte. (499) Effet de la pratique et de l'arrêt	12 H professionnels 27 H contrôles	Activité + ostéoformation Arrêt - ostéoformation et + résorption Reprise + ostéoformation et -- résorption
Résistance (494) 18 mois	22 F entraînés 14 F contrôles	Ostéoformation + sujets entraînés
Endurance (490)s	7 H 19 ans	Résorption = Ostéoformation -- ou =
Résistance (496)	18 H 59 ans dont 11 entraînés	Ostéoformation + entraînés
Activité physique variée (501)	H âge moyen entraînés versus contrôles	Résorption -- Ostéoformation =
Résistance (498)	30 H > 65 ans 16 entraînés vs. contrôles	Résorption -- Ostéoformation + ou =
Résistance en excentrique (493)	37 H 24 ans dont : entraînés versus contrôles	Résorption -- Ostéoformation + sujets entraînés
Endurance +/- impact (488)	28 F 35ans 17 marche versus marche + impact	Résorption = Ostéoformation PTH =
Comparaison endurance et résistance (489)	10 H endurance 10 H résistance 10 H contrôles	Endurance ostéoformation =, résorption -- Résistance ostéoformation +, résorption +
Endurance(504) + restriction calorique	8 H 25 ans entraînés	Résorption = Ostéoformation -- (restriction)
Endurance(88)	27 F dont 9 en aménorrhée	Résorption et ostéoformation -- aménorrhée

### 8.3.1.5 Effet du statut hormonal et nutritionnel :

Grémion et al. (500) et Zanker et al. (88) ont observé les effets de la pratique sportive et de l'imprégnation en œstrogènes sur le remodelage osseux chez des femmes pratiquant la course à pied. Les premiers ont constaté que l'ostéocalcine sérique était inférieure chez les femmes sous contraception orale, par rapport à celles qui étaient euménorrhéiques ou en oligoaménorrhée et que la PTH était supérieure chez les sportives euménorrhéiques. Ces résultats apparaissent contradictoires avec ceux de Zanker et al. (88) qui montraient une diminution de l'ostéoformation chez les sportives en aménorrhée. Cette différence peut s'expliquer par le fait que les sportives en aménorrhée de l'étude de Grémion et al. (500) avaient des caractéristiques anthropométriques (poids, indice de masse corporelle) identiques à celles des sportives euménorrhéiques ou sous contraception orale, contrairement à celles de Zanker et al. (88) qui avaient un IMC inférieur.

En effet, l'altération de la balance énergétique influe sur le remodelage osseux. Ainsi, les études effectuées chez les femmes en restriction calorique pathologique (anorexie mentale) (505) ou expérimentale (307) montrent un découplage du remodelage osseux avec une diminution de la formation et une augmentation de la résorption.

Ces études suggèrent également que la carence en œstrogènes ne suffit pas pour expliquer la diminution de l'ostéoformation chez les sportives en aménorrhée et que les autres modifications hormonales induites par le déficit nutritionnel jouent également un rôle important (307).

### 8.3.2 Mécanismes d'action de l'activité physique sur le remodelage osseux

La plupart des études présentées démontre que l'activité physique, quelle que soit son mode, exerce un effet sur le remodelage osseux avec une résultante positive sur l'ostéoformation. Ces effets sont d'autant plus importants que les sports pratiqués sollicitent l'ensemble des pièces squelettiques (musculature, ou impacts diffus). Ces modifications du remodelage osseux - apparemment transitoires -, sont bien corrélées avec l'augmentation de la densité minérale osseuse qui est localisée aux pièces squelettiques sollicitées (17). Il semble donc que les contractions musculaires et les impacts répétés stimulent l'activité des ostéoblastes en modifiant la vascularisation et/ou la production de facteurs de croissance locaux (299, 506).

Cependant, la régulation endocrinienne, notamment celle des stéroïdes sexuels, joue également un rôle clé dans la régulation du remodelage osseux (326). En effet, la diminution de l'imprégnation œstrogénique lors de la ménopause se traduit par une perte de masse osseuse généralement associée à un accroissement du remodelage osseux au détriment de la

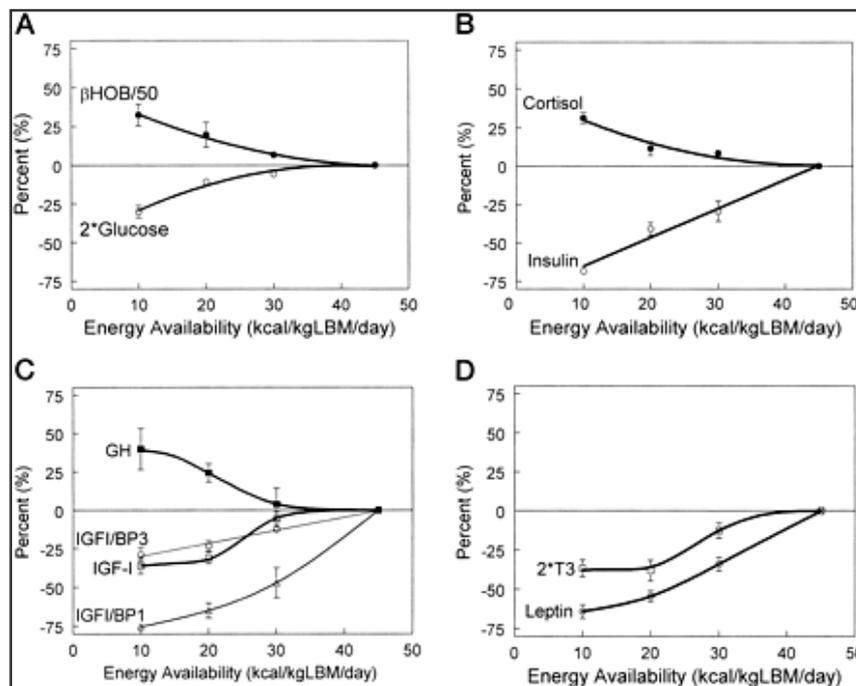
formation. Ces altérations ainsi que la diminution du risque de fractures sont améliorées par la substitution hormonale (290).

Cependant, les mécanismes par lesquels les femmes sportives en aménorrhée présentent une perte de masse osseuse, ne sont pas totalement superposables à ceux de la femme ménopausée. En effet :

- (i) Le déficit œstrogénique observé chez la sportive est d'origine hypothalamo-hypophysaire et non d'origine ovarienne (80, 83).
- (ii) Il existe essentiellement un découplage du remodelage osseux chez la sportive alors qu'un remodelage osseux élevé est plus fréquemment observé chez la femme ménopausée (86, 88).
- (iii) Même s'il existe peu d'essais contrôlés et/ou randomisés, la substitution en œstrogènes chez la sportive ne parvient pas à augmenter la masse osseuse de ces sportives (505).
- (iv) Il existe un consensus (80, 83, 88) sur le rôle déterminant de la restriction calorique dans la genèse du dysfonctionnement hypothalamo-hypophysaire chez la femme sportive. Ce mécanisme semble également très impliqué chez l'homme sportif qui présente une diminution de la masse osseuse (88).
- (v) La restriction calorique semble augmenter la perte de masse osseuse puisque Grinspoon et al. (507) ont montré que la densité minérale osseuse était plus basse chez des patientes ayant une anorexie mentale comparée à celle de patiente qui avaient une aménorrhée d'origine hypothalamo-hypophysaire d'une autre étiologie. Le déficit œstrogénique ne serait donc pas seul en cause.

L'ensemble de ces éléments rapproche le modèle physiopathologique de l'aménorrhée de la sportive à celui de l'anorexie mentale. Même si les TCA présentés par la plupart de ces sportives ne satisfont pas aux critères diagnostiques d'anorexie mentale, il existe de nombreuses similitudes dans la présentation clinique (IMC et % de masse grasse bas, activité physique importante, troubles de l'image corporelle) (508) et dans les aspects biologiques (Cf. figure n°21) (concentrations plasmatiques d'IGF 1, insuline et leptine basses, production journalière de GH augmentée traduisant une certaine résistance à la GH, cortisol basal élevé) (86, 88).

Figure n°21 : Retentissement hormonal induit par la restriction calorique chez des femmes ayant des cycles menstruels normaux, d'après (80)



Ainsi, la diminution de l'ostéof ormation observée chez ces sportives s'expliquerait par la diminution ou l'augmentation (cortisol) de l'activité de ces hormones qui régulent l'activité des ostéoblastes. Il expliquerait également pourquoi la substitution en œstrogènes est inefficace si elle n'est pas associée à une reprise pondérale. En effet, plusieurs études ont montré que le gain de masse osseuse chez des patientes ayant une anorexie mentale était associé au gain pondéral avant le retour des cycles menstruels [revue in (88)]. De plus, l'administration de leptine recombinante chez ces patientes entraîne une augmentation de la masse osseuse, du remodelage osseux et de la concentration plasmatique d'IGF1, sans que ces modifications soient associées à une reprise pondérale (336).

Il faut également signaler la diminution de la PTH chez les sportives en aménorrhée (500) sachant que cette hormone est utilisée dans le traitement de l'ostéoporose post-ménopausique (509).

## 9 *Chapitre IX : Synthèse et objectifs*

L'ensemble des données de la littérature montre que la pratique intensive du Sport est susceptible d'entraîner des modifications aiguës, parfois importantes, sur le fonctionnement des axes HHS et somatotrope et, à un moindre degré, sur le remodelage osseux.

En effet, non seulement l'effort musculaire augmente de façon proportionnelle les concentrations plasmatiques de cortisol et de GH, mais les concentrations basales de ces paramètres sont également susceptibles d'être modifiées par l'utilisation fréquente de médicaments ou de produits dopants (glucocorticoïdes, GH, stéroïdes anabolisants) et par des troubles du comportement alimentaires de type restrictif. Inversement, les effets de l'entraînement sur le fonctionnement de ces axes hormonaux sont beaucoup plus contrastés, probablement en raison de l'hétérogénéité de l'âge, du sexe, du niveau d'entraînement et du statut nutritionnel des sujets étudiés.

En plus, il existe peu de travaux qui ont concerné le retentissement du Sport de haut niveau sur ces axes hormonaux. C'est pourquoi il nous a semblé pertinent d'analyser le retentissement de la pratique intensive du sport sur les concentrations plasmatiques basales des paramètres qui reflètent la fonction corticotrope, somatotrope et le remodelage osseux, et ce, en comparant des sportifs qui pratiquaient des disciplines différentes en terme de dépense énergétique et de sollicitations musculaires et squelettiques, au cours de saisons différentes. Il nous a paru également pertinent de vérifier s'il existait une différence sexuée et si l'utilisation de la contraception œstroprogestative modifiait certains paramètres.

Cette description nous paraît essentielle pour établir des valeurs de référence au repos chez des sportifs de haut niveau et de déterminer à partir de quel niveau une valeur doit être considérée comme anormale.

L'objectif de ce travail était également de se focaliser sur les valeurs ou les variations anormales de manière à mieux caractériser les indices qui évoquent une pratique à risque chez un sportif de haut niveau (dopage et/ou comportement alimentaire restrictif).

L'ensemble des résultats ayant pour but de donner des éléments pertinents aux médecins qui suivent ces sportifs pour repérer précocement le développement d'une affection intercurrente, d'un trouble du comportement alimentaire ou de l'utilisation de médicaments ou produits dopants (corticoïdes ou GH).

Par ailleurs, ces données pourront également servir de développement à la détection de produits dopants dans un cadre purement disciplinaire comme cela a été proposé pour l'érythropoïétine.

## **Deuxième partie : Contributions personnelles**

### **10 Article I : Risque d'insuffisance surrénalienne chez des cyclistes élites**

Les deux articles qui suivent ont été réalisés dans le but de vérifier si le dosage du cortisol plasmatique était pertinent pour dépister l'usage de glucocorticoïdes chez les Cyclistes élite et le risque d'insuffisance surrénalienne qui peut engager le pronostic vital de ces sportifs en cas de décompensation aiguë. Le principe physiopathologique qui sous tend ce travail est la rétroinhibition de l'axe HHS par les glucocorticoïdes qui entraîne une insuffisance surrénalienne haute et une diminution de la sécrétion de cortisol.

## Intérêts du suivi biologique du cycliste de haut niveau dans le dépistage des insuffisances surrénaliennes des glucocorticoïdes Role of plasma cortisol follow-up for the detection of glucocorticoid-induced adrenal insufficiency in elite cyclists

M. Guinot <sup>a,b,c</sup>, M. Duclos <sup>d</sup>, A. Megret <sup>c</sup>, Y. Le Bouc <sup>b</sup>

<sup>a</sup>Antenne médicale de prévention et de lutte contre le dopage Rhône-Alpes, hôpital Sud, CHU de Grenoble, 38042 Grenoble cedex, France

<sup>b</sup>Explorations fonctionnelles endocriniennes, université Paris-VI et Inserm U515, hôpital Trousseau, 26, avenue du Docteur Netter, 75012 Paris, France

<sup>c</sup>Fédération française de cyclisme, 93561 Rosny-sous-Bois cedex, France

<sup>d</sup>Inserm U471 et service sport santé, hôpital Pellegrin, 33000 Bordeaux, France

Accepté le 20 janvier 2005

### Résumé

**Objectifs.** – Évaluer le risque d'insuffisance surrénalienne durant le suivi médical réglementaire organisé par la fédération française de cyclisme en fonction de la prise de glucocorticoïdes.

**Synthèse des faits.** – Les glucocorticoïdes de synthèse sont des médicaments très utilisés en milieu sportif, et peuvent entraîner des complications sévères. En 2001 et 2002, 659 cyclistes élites ont été surveillés par dosage de la cortisolémie basale. Trente-quatre (5,2 %) avaient un cortisol bas ( $< -2$  DS), et donc une suspicion d'insuffisance surrénalienne. Sur 15 de ces cyclistes qui ont eu une exploration des surrénales par un test au synacthène, huit avaient un test perturbé. En 2002, un auto-questionnaire a montré que 15,8 % des cyclistes avaient eu une corticothérapie et a permis d'analyser les modes de prescription.

**Conclusion.** – Notre étude confirme l'intérêt du dosage du cortisol plasmatique pour dépister et réduire les risques d'insuffisance surrénalienne chez les cyclistes. Ce dosage devrait être étendu aux autres disciplines à risque.

### Abstract

**Aims.** – To evaluate the risk of adrenal insufficiency during the French cycling federation mandatory medical follow-up.

**Synthesis of facts.** – Synthetic glucocorticoids are frequently used in sports and provided numerous side effects. In 2001 and 2002, 659 elite cyclists were performed the basal plasma cortisol. Thirty-four (5.4%) who had a low basal plasma cortisol were suspected of glucocorticoids -induced adrenal insufficiency. Fifteen of them where explored with a short synacthen test, 8 of them showed a subnormal test.

In 2002, a self-administered questionnaire showed that 15.8% of cyclists were provided a corticosteroid therapy with the prevalence of local route of administration.

**Conclusion.** – Our study confirmed the interest to perform plasma basal cortisol to detect and reduce the risk of glucocorticoid-induced

<sup>24</sup> In Science & Sports (2005) vol.20 p 193-196

<http://france.elsevier.com/direct/SCISPO/>

© 2005 Publié par Elsevier SAS

### Introduction

Les glucocorticoïdes de synthèse (GC) sont des médicaments utilisés pour leurs propriétés antalgiques et anti-inflammatoires, mais vraisemblablement aussi pour leurs effets psychostimulants [4]. Bien que leurs indications thérapeutiques ne soient pas toujours validées selon les critères de consensus médicaux, ils sont très prescrits chez le sportif (voire détournés de leur usage thérapeutique). En effet, en 2002, ils représentaient 42 % des substances retrouvées dans les échantillons urinaires analysés en France lors des contrôles antidopage. Cette utilisation pose un problème de santé publique chez les pratiquants et remet en cause la pertinence de la législation antidopage actuelle pour lutter contre l'abus de leur usage. En effet, le code mondial antidopage prévoit l'interdiction des GC par voie générale uniquement en compétition, alors que certaines voies locales sont soumises à une autorisation d'utilisation thérapeutique préalable, ou autorisées pour les voies dermatologiques ([www.wada-ama.org](http://www.wada-ama.org)).

Ces dispositions destinées à permettre l'accès aux soins aux sportifs, ne sont pas rationnelles car il existe des effets systémiques des GC administrés localement [1]. Quel que soit le mode d'administration, ils peuvent entraîner des effets secondaires chroniques, et également menacer le pronostic vital par la décompensation d'une insuffisance surrénalienne, surtout en cas de contrainte ajoutée à celle de l'effort [4]. Pour ces raisons, la commission médicale de la fédération française de cyclisme a décidé de dépister les insuffisances surrénaliennes durant le suivi médical réglementaire. En raison des difficultés à réaliser systématiquement l'exploration dynamique des corticosurrénales, seul le dosage du cortisol plasmatique basal a été réalisé dans la population cycliste élite.

### Matériels et méthodes

Au cours du suivi médical réglementaire, le cortisol plasmatique a été dosé chez 659 cyclistes élites, 585 hommes et 74 femmes (386 en 2001 et 538 en 2002). En 2002, compte tenu des résultats de 2001, il a été ajouté un auto-questionnaire au moment des prélèvements. Il était demandé à chaque cycliste s'il avait bénéficié d'un traitement par GC les trois mois qui précédaient l'analyse et, le cas échéant, d'en préciser le mode d'administration et le nom.

Un prélèvement était effectué le matin, à jeun, entre 7 heures 30 et 9 heures 30. Après conditionnement, le cortisol était dosé dans un délai de 24 heures dans un seul laboratoire par fluorométrie en 2001 (ST AIA-Pack Cortisol, Eurogenetics Tosoh France) puis par chimiluminescence directe en 2002 (Ready Pack Avia Centaur Cortisol, Bayer diagnostic).

En 2001, les cyclistes qui avaient un cortisol inférieur aux limites de référence du kit ou un cortisol inférieur à 500 nmol/L alors qu'ils étaient sous corticothérapie ont été convoqués pour être explorés en endocrinologie. Cette exploration associait la recherche de signes cliniques d'insuffisance surrénalienne, de l'administration de GC et, si nécessaire, une exploration dynamique de la fonction surrénalienne par un test court au synacthène à 250 µg en intraveineuse [5].

En 2002, la commission médicale nationale de la FFC a adopté une attitude différente. Elle interdisait temporairement l'accès aux compétitions aux cyclistes qui avaient une cortisolémie basse ( $< -2$  DS) et leur demandait de consulter un endocrinologue. Dans un second temps, ces cyclistes étaient contactés par téléphone par le médecin responsable du suivi médical de FFC pour vérifier si des GC avaient été prescrits. Les cyclistes étaient autorisés à reprendre la compétition lorsque l'endocrinologue leur délivrait un certificat médical de non-contre-indication.

### Résultats

En 2001, 24 valeurs de cortisol basal concernant 22 cyclistes (5,7 %), étaient inférieures aux valeurs de référence, contre 12 sur 538 (2,2 %) en 2002 ( $p < 0,005$ ). Parmi ces 12, neuf n'avaient pas déclaré de corticothérapie.

L'ensemble des données de l'exploration corticotrope des sujets convoqués est présenté dans le **Tableau 1**. Parmi les 22 coureurs de 2001, 15 ont eu une exploration complète, quatre (26,7 %) présentaient une insuffisance surrénalienne, quatre (26,7 %) étaient considérés limites, sept (46,6 %) étaient normaux. Le délai moyen entre la date du prélèvement et la réalisation du test au synacthène était de  $38 \pm 22$  jours. L'enquête effectuée au moment de la consultation avec l'endocrinologue a montré que 13 de ces 15 coureurs avaient bénéficié d'une corticothérapie (**Tableau 1**). Dix autres coureurs ont eu un contrôle simple de la cortisolémie dont le résultat était normalisé. En 2002, l'analyse des réponses au questionnaire avec les informations concernant les différentes molécules et leurs voies d'administration sont données dans le **Tableau 2a**. Il est à noter que 15,8 % déclaraient une corticothérapie. Mais l'enquête rétrospective réalisée chez les neuf cyclistes qui avaient un cortisol bas et qui n'avaient pas déclaré initialement de traitement, a révélé l'utilisation de GC chez huit d'entre eux.

### Discussion

La fréquence de l'utilisation des GC chez les cyclistes élités, qu'ils soient prescrits ou non, nécessite l'évaluation des risques liés à leur usage, notamment celui de l'insuffisance surrénalienne. Au cours du suivi réglementaire destiné à une grande population, le cortisol nous a semblé l'examen le mieux adapté puisque sa concentration plasmatique est inversement corrélée au risque d'insuffisance surrénalienne [2].

En 2001, nous avons exploré 15 des 25 cyclistes qui avaient un cortisol bas ou limite sous GC. Malgré un long délai entre le dépistage et la réalisation des tests diagnostiques, une insuffisance surrénalienne était certaine ou possible chez huit d'entre eux. Cette fréquence élevée de dysfonctionnement surrénalien induit par les GC est comparable à celle observée dans la littérature [1,3]. Elle aurait, vraisemblablement, été supérieure si les explorations avaient été réalisées plus précocement. En effet, Hentzen et al. [3] ont montré que la plupart des insuffisances surrénaliennes induites par les corticothérapies courtes par voie générale régressaient en moins de deux semaines. Dans notre étude, le fait qu'un nombre élevé de cyclistes soit resté longtemps en insuffisance surrénalienne pourrait être lié à l'emploi de GC à demi-vie longue et/ou de façon prolongée. En effet, le **Tableau 2b** montre une fréquence élevée de présentations contenant de la triamcinolone et de la bêtaméthasone qui n'étaient pas utilisées dans l'étude précitée. Ces GC ont une demi-vie plasmatique et une activité glucocorticoïde supérieure à celle de la prednisone [4].

L'analyse des produits déclarés (**Tableau 2a**) a montré que les GC étaient principalement administrés localement, les lésions tendineuses, les infections des voies aériennes supérieures et l'inflammation du périnée étant fréquentes chez les cyclistes. Nos données suggèrent qu'il peut y avoir une freination de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien due au passage systémique des GC qui sont administrés localement. Il n'est cependant pas exclu que certaines de ces prescriptions aient fait l'objet d'un détournement d'utilisation, en particulier pour la triamcinolone et la bêtaméthasone qui ont des formes d'administration multiples. Enfin, il est possible que le nombre de cyclistes insuffisants corticotropes aurait été supérieur si nous avions exploré les cyclistes par un test au synacthène à 1 µg (au lieu de 250 µg) qui est mieux adapté pour dépister les insuffisances surrénaliennes

frustes [1]. En effet, cette dose d'ACTH est plus proche des valeurs physiologiques qui sont secrétées en réponse à une contrainte aiguë.

L'analyse des réponses à l'auto-questionnaire a montré que 15,8 % des cyclistes avaient bénéficié d'une corticothérapie. Ce pourcentage était probablement sous-estimé car il a été réalisé à partir de déclarations spontanées. De plus, l'enquête téléphonique effectuée a posteriori auprès des cyclistes une fois connue l'existence d'un cortisol bas, a révélé que 91 % (8/9) n'avaient pas initialement déclaré de traitement par GC.

### Conclusion

Notre étude confirme la fréquence élevée de l'utilisation des GC chez les cyclistes de haut niveau. Elle montre qu'il existe un risque non négligeable de survenue d'insuffisance surrénalienne, même avec l'utilisation de voies locales. Le dosage du cortisol plasmatique permet d'en dépister les formes frustes les plus marquées. La découverte d'un cortisol plasmatique bas chez un sportif est donc un signe biologique qui évoque la freination de l'axe corticotrope due à l'administration de GC. Compte tenu des risques aigus, elle doit entraîner l'interruption temporaire d'accès à la compétition et nécessite un test au synacthène (de préférence 1 µg) en milieu endocrinologique pour éliminer une insuffisance surrénalienne.

Par ailleurs, certaines molécules (bêtaméthasone, triamcinolone) ont une fréquence d'utilisation élevée par rapport aux recommandations consensuelles médicales dans les indications déclarées par les cyclistes. Ces éléments évoquent la possibilité d'un détournement d'usage de ces molécules car elles ont plusieurs voies d'administration. Ainsi, la réglementation antidopage actuelle qui autorise l'usage des GC en fonction de leur voie d'administration, ne permet pas d'éviter leurs effets systémiques qui seront majorés en cas d'utilisation détournée. D'un point de vue de santé publique, des études sont nécessaires pour évaluer le retentissement (psychopathologique, osseux, cardiovasculaire) de l'utilisation chronique des GC dans les disciplines sportives exposées et sensibiliser les prescripteurs.

### Remerciements

Cette étude a bénéficié pour le suivi des cyclistes du soutien financier du ministère français des sports et des groupes sportifs. Nous remercions le conseil de prévention et de lutte contre le dopage pour son encouragement à réaliser cette étude. Nous remercions particulièrement les cyclistes qui nous ont autorisés à analyser les données du suivi médical.

### Références

- [1] Broide J, Soferman R, Kivity S, Golander A, Dickstein G, Spierer Z, et al. Low-dose adrenocorticotropin test reveals impaired adrenal function in patients taking inhaled corticosteroids. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:1243–6.
- [2] Erturk E, Jaffe G, Barkan A. Evaluation of the integrity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by insulin hypoglycemia test. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2350–4.
- [3] Henzen C, Suter A, Lerch E, Urbinelli R, Schorno X, Briner V. Suppression and recovery of adrenal response after short-term, highdose glucocorticoid treatment. *Lancet* 2000;355:542–5.
- [4] Stewart P. Adrenal cortex. In: Williams WF, editor. *Text book of endocrinology*. Philadelphia:W.B. Saunders Co; 2003. p. 503–7.
- [5] Stewart P, Seckl J, Corrie J, Edwards C, Padfield P. A rational approach for assessing the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Lancet* 1988;1:1208–10.

## Tableaux

Tableau 1  
Explorations des cortisolémie basses

	2001	2002
	386 Cyclistes élités	538 Cyclistes élités
Cortisol bas	22 (5,7 %) + 3 sous corticothérapie	12 (2,2 %) dont 3 sous corticoïdes
Enquête rétrospective (endocrinologue et téléphone FFC)	15 sous corticothérapie Un travail posté Quatre non traités Cinq non répondus	Neuf dont huit sous corticothérapie
Explorations endocriniennes	15 tests synacthène à j30 en moyenne Quatre anormaux Quatre limites Sept normaux	12 explorations dont Cinq contre-indications

Tableau 2a  
Voies d'administration des glucocorticoïdes chez 85 cyclistes élite

Voies d'administration	Nombre (%)
Dermatologique	14 (14,4)
Inhalation	41 (42,3)
Infiltrations	17 (17,5)
Mésothérapie	1 (1)
Orale	14 (14,4)
Intramusculaire	3 (3,1)
Combinaison	6 (6,2)
Infiltration + inhalation	3
Dermatologique + inhalation	1
Infiltration + orale	2
Indéterminée	1 (1)

Tableau 2b  
Glucocorticoïdes de synthèse utilisés par 85 cyclistes en 2002

Béclométhasone	11 (11,3 %)
Bétaméthasone	25 (25,8 %)
Budésonide	4 (4,1 %)
Cortivasol	1 (1 %)
Fluticasone	6 (6,2 %)
Méthylprednisolone	2 (2,1 %)
Mométasone	2 (2,1 %)
Prednisone	1 (1 %)
Prednisolone	10 (10,3 %)
Triamcinolone	11 (11,3 %)
Association	8 (8,2 %)
Non précisée	16 (16,4 %)

## 10.2 RISKS OF ADRENAL INSUFFICIENCY AND CORTICOSTEROID THERAPY IN ELITE CYCLISTS

Michel Guinot<sup>1,2,3</sup>, Martine Duclos<sup>4</sup>, Nourredine Idres<sup>1</sup>, Jean Claude Souberbielle<sup>5</sup>, Armand Megret<sup>3</sup>, Yves Le Bouc<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of endocrine investigations, Hôpital Trousseau, AP-HP Université Paris VI-France

<sup>2</sup>INSERM U515, Hôpital Saint Antoine, Paris- France

<sup>3</sup>French Cycling Federation, Rosny sous Bois - France

<sup>4</sup>INSERM U471 & department of health & Sports, Bordeaux- France

<sup>5</sup>Department of biological investigations, Hôpital Necker, Paris- France

Authors' correspondence,

Michel Guinot, Unité fonctionnelle de médecine du Sport, Hôpital Sud, CHU de Grenoble, avenue de Kimberley, 38042 Grenoble - France,

E-Mail, MGuinot@chu-grenoble.fr

Phone, 33 4 76769303, Fax, . 33 4 76768921

Keywords: Hypothalamo-pituitary adrenal axis, doping, Glucocorticoid, baseline plasma cortisol

Abbreviate title: Adrenal insufficiency in elite cyclists

**Abstract**

**Objective** To assess the value of measuring baseline plasma cortisol concentrations in detection of adrenal insufficiency during compulsory medical tests carried out in elite cyclists.

**Design** Plasma basal cortisol was performed in 659 elite cyclists (585 men and 74 women) during the 2001 and 2002 sporting seasons. We took an active interest in cyclist with basal plasma cortisol below the reference range.

**Results** Adrenal insufficiency was suspected on the basis in 34 cyclists (5.2%) — 22 in 2001 and 12 in 2002. Three others cyclists were convoked in 2001 because they had received corticosteroid treatment. In 2001, 25 cyclists were convoked, 10 cyclists simply underwent baseline plasma cortisol determination and 15 cyclists underwent dynamic exploration of adrenal function with the short synacthen test. Adrenal function was found to be deficient in four of these cyclists, at the limits of the normal range in four and normal in seven. In 2002, based on these results, all the cyclists were sent a questionnaire. This survey revealed that 85 of 538 cyclists (15.8%) had received glucocorticoid treatment, thereby facilitating early screening.

**Conclusion:** This study confirms the value of baseline plasma cortisol determination for the detection of adrenal insufficiency in athletes. This method has a high predictive value for adrenal deficiency when cortisol concentrations are below the reference range. We propose a means for interpreting hypothalamo-hypopituitary adrenal function in athletes based on our results.

**Introduction**

Glucocorticoids have anti-inflammatory and psychostimulatory properties (126). These properties probably result in their frequent prescription to athletes, making it possible to continue sporting activities or shortening the recovery period. This medical practice, the risks of which are well known among non-athletes, has not been studied in depth in high-level sportsmen and women, notably in cyclists. The World Anti-Doping Code bans the use of systemic glucocorticoids in competition ([www.wada-ama.org](http://www.wada-ama.org)). Conversely, local forms (intraarticular dermal, ocular, inhaled) are authorized for therapeutic use but must be justified by a medical prescription during anti-doping tests. These distinctions, the aim of which is to fight doping whilst providing athletes with access to medical care, do not take into account the demonstration in many previous studies that glucocorticoids have a systemic effect regardless of the route of administration (162, 510-513). Glucocorticoids may have

severe side effects and patients receiving them should therefore be monitored. In addition to chronic effects, affecting the bone density in particular, the decompensation of adrenal insufficiency in cases of stress combined with exercise (infection, trauma, etc.) can be life-threatening. Henzen et al. (164) observed adrenal insufficiency in 45% of subjects receiving the equivalent of at least 25 mg/day prednisone for less than one month. Broide et al. (162) and Kannisto et al. (510) found that 25% and 35% of asthmatic children, respectively, treated with inhaled corticoids had adrenal insufficiency. The hypothalamic-pituitary axis may also be inhibited by intraarticular glucocorticoids. Lazarevic et al.(514) reported a decrease in plasma cortisol levels 24 hours after the administration of 40 mg of methylprednisolone acetate in nine of their 11 patients, the values were below normal in three cases. Koehler et al. (515) observed no adrenal response in a stimulation test with insulin-induced hypoglycemia, 48 hours after the intraarticular administration of methylprednisolone acetate. Thus, regardless of the mode of administration, even short-term corticosteroid treatment is associated with a risk of adrenal insufficiency.

Two communications about elite cyclists confirmed that glucocorticoids have been widely used by this population since 2001, when they were first systematically sought in urine during anti-doping tests in France. The first (French Cycling Federation communication) showed that 64% of the 112 files studied for doping (with no therapeutic justification) concerned glucocorticoids. The second (French Council of Antidoping Fight communication) concerned the results of tests carried out during the 2002 Tour de France, 24.6% of urine samples from professional cyclist tested were positive for glucocorticoids. These sportsmen were prescribed glucocorticoids for medical reasons, sometimes in combination with inhaled beta 2 agonists. Given the risks associated with corticosteroids and the frequency with which these drugs are used in sporting circles, the French Cycling Federation (FFC) now systematically screens for adrenal insufficiency as part of the mandatory medical follow-up for high-level sportsmen and women (article L 3611 of the French Public Health Code concerning protection of the health of sportsmen and women and the fight against doping). Endocrinological recommendations concerning the use of glucocorticoids suggest that the short synacthen test (250 µg 1-24 ACTH) should be carried out initially, but only insulin tolerance and metyrapone tests can actually confirm the impairment of adrenal function (158, 159). However, insulin tolerance and metyrapone tests cannot be used routinely and on large cohorts, whereas it is possible to measure baseline plasma cortisol concentration. As sportsmen and women travel extensively, the only test that can be performed systematically is baseline plasma cortisol determination. A blood sample is collected in ambulatory conditions,

*in a local laboratory. This sample is then sent to a centralized laboratory for analysis 24 hours later.*

*The aim of our study was to assess the value of systematic baseline plasma cortisol determination during mandatory medical examinations for the identification of subjects at risk of adrenal insufficiency among elite cyclists in France. Since adrenal insufficiency is negatively correlated to baseline plasma cortisol (516, 517), we took an active interest in cyclist with low plasma cortisol level.*

*Sportsmen and women, materials & methods*

### ***Sportsmen and women***

*In accordance with article L 3611 of the French Public Health Code and the rules of the International Cyclist Union ([www.uci.ch](http://www.uci.ch)), the FFC asked elite amateur cyclists to provide three blood samples during the sporting season (spring, summer, autumn) and professional cyclists to provide four blood samples (winter, spring, summer, autumn). The cyclists and the national medical commission of the FFC approved the principle of our study based on the results of follow-up, and informed consents were obtained from the sportsmen and women. We chose to carry out our study in April 2001 (period A), July-August 2001 (period B), April 2002 (period C) and July-August 2002 (period D). These periods were chosen because they correspond to peaks in cycling activity due to training (April) and competitions (July-August, classical races and stage races for road cycling, national and international championships for other disciplines).*

*Baseline blood hematological parameters, hormone concentrations (testosterone, insulin-like growth factor 1, cortisol), osteocalcin concentrations and iron reserves are systematically determined for medical follow-up and to test for any unsporting behavior (doping, eating disorders, overtraining). We recently described the effects of pathologically high iron stores in elite cyclists (518), demonstrating the value of this follow-up. Basal plasma cortisol concentrations were measured in 2001 and 2002 for 659 elite cyclists (585 men, 74 women). Samples were obtained from 386 cyclists in 2001 and 538 in 2002. Two hundred sixty-five cyclists were tested in both 2001 and 2002. Given the small numbers of participants in some cycling disciplines, we grouped cyclists according to the main metabolic pathway used in competition (Table 1). Cross-country, cyclo-cross, road and track cyclists were placed in the “endurance” category and BMX, downhill & trial and sprint cyclists were combined in the “resistance” category. Based on the results obtained in 2001, the national medical commission of the FFC decided it would be useful to ask cyclists to complete a questionnaire at the time of sampling in 2002. Cyclists were asked whether they had taken glucocorticoids*

*in the previous three months and if so, to state the route of administration, the name of the product and the reason for the medical prescription.*

#### ***Determination of baseline plasma cortisol***

*A blood sample was collected by puncture of the antecubital vein in fasting conditions between 7.30am and 9.30am. Blood samples were centrifuged and the serum divided into aliquots and frozen at -20°C, for analysis within 24 hours in a single laboratory (centralized testing). Two plasma cortisol kits were used, one in 2001 and the other in 2002. Normal values were based on data of the laboratories in non sportsmen people, since normal values are difficult to establish in elite sportsmen population because of the possibility of doping and impact of intensive practice on plasma cortisol (348). Nevertheless, although mean basal plasma cortisol may be higher in elite sportsmen than in controls, it remains in the reference range (519).*

*In 2001, the plasma cortisol kit used was based on fluorimetry (ST AIA-Pack Cortisol, Eurogenetics Tosoh France). The intra- and inter-series coefficients of variances were 3.1% and 3.9%, respectively, at 143 nmol/L, 2.6% and 4.3%, respectively, at 598 nmol/L and 2.5% and 4.6%, respectively, at 1136 nmol/L. The percentage of cross-reactions with synthetic steroids was 47.5% with prednisolone and 2.7% with prednisone. Normal values between 7.30am and 9.30am ranged from 287 to 728 nmol/L. In 2002, plasma cortisol was measured with a direct chemiluminescence technique (Ready Pack Avia Centaur Cortisol, Bayer Diagnostic). The intra- and inter-series coefficients of variances were 3.69% and 5.45%, respectively, at 107 nmol/L, 2.89% and 3.07%, respectively, at 390 nmol/L and 1.86% and 3.82%, respectively, at 760 nmol/L. The percentage of cross-reactions with synthetic steroids was 27% with prednisolone, 20.9% with methylprednisolone and 6.6% with prednisone. Normal values between 7.30am and 9.30am ranged from 119 to 618 nmol/L.*

#### ***Detection of adrenal insufficiency***

*In 2001 (periods A [April] and B [July-August]), the FFC convoked all cyclists who fulfilled at least one of the following criteria for endocrine testing. If the endocrinologist deemed it necessary, these cyclists underwent dynamic exploration of adrenal function,*

*(i) Baseline plasma cortisol below normal, 287 nmol/L. Twenty-two (5.7% of those tested in 2001) cyclists met this criterion. Two of these cyclists had low plasma cortisol in both periods but only responded to the convocation after the July sample. Of the 22 patients who had to see an endocrinologist, only 12 underwent dynamic exploration of adrenal function, the others simply underwent basal plasma cortisol determination (Table 2).*

(ii) Baseline plasma cortisol below 500 nmol/L for cyclists known to have received corticosteroid treatment. Three subjects (nos.16, 20 and 25, Table 3) meeting this criterion were convoked for dynamic exploration. Indeed, it has been shown that in subjects with suspected adrenal insufficiency due to corticosteroid treatment, only basal plasma cortisol exceeding 500 nmol/L is associated with a normal response in the insulin-induced hypoglycemia test (516) or the short synacthen (250 µg) test (517).

Thus, 15 cyclists underwent dynamic exploration of adrenal function. These tests consisted of a search for clinical signs of adrenal insufficiency, the administration of glucocorticoids and dynamic exploration by means of the short synacthen test (250 µg by the intravenous route) (158, 159). Ten of the 25 patients (40%) underwent only basal plasma cortisol determination. The results are presented in Table 2. Interpretation of the short synacthen test was based on plasma cortisol concentration at 30 minutes. The cyclists were considered to have adrenal insufficiency if cortisol concentration was below 500 nmol/L, adrenal function at the limits of the normal range if cortisol concentration was between 500 and 600 nmol/L and normal adrenal function if this concentration exceeded 600 nmol/L (158).

In 2002, the national medical commission of the FFC adopted a different attitude. A self-administered questionnaire was sent to each cyclist before sampling. This questionnaire asked whether the cyclist had received glucocorticoids in the three months preceding the sampling. If the cyclist gave an affirmative response, he or she was asked to give the name of the product, the reason for prescription and the route of administration. Eighty-five (15.8%) cyclists claimed to have received glucocorticoids. The 82 that had normal baseline plasma cortisol were sent FFC recommendations and asked to consult their doctor. The 3 others had plasma cortisol below the reference range. Nine of the cyclists who claimed not to have received corticosteroids had low plasma cortisol. Thus, 12 cyclists (5 in period C and 7 in period D) had their licenses temporarily withdrawn for medical contraindication for competitive cycling. These cyclists were referred to an endocrinologist. These nine subjects were interviewed by the FFC doctor over the telephone, to determine whether they had been prescribed glucocorticoids. The cyclists were allowed to compete again when the endocrinologist issued a medical certificate to this effect.

### **Statistical analysis**

We used SPSS software for Windows version 11 (SPSS Inc, Chicago, USA). We compared means for paired or independent samples by one-way analysis of variance or the Chi-square

test. The results are expressed as means  $\pm$  SD. *P* values of below 0.05 were considered statistically significant.

## **Results**

### **Basal plasma cortisol**

The baseline plasma cortisol concentrations of the 659 cyclists as a function of season are presented in figure 1. The mean ( $\pm$ SD) concentrations for periods A, B (2001), C and D (2002) were 527 ( $\pm$ 136), 511 ( $\pm$ 135), 501 ( $\pm$ 151) and 456 ( $\pm$ 153) nmol/L, respectively. They were significantly higher in spring than in summer in both years (period A vs. period B and period C vs. period D), regardless of the quantification method used.

In 2001, 24 baseline plasma cortisol concentrations (12 for period A and 12 for period B) for 22 of the 386 cyclists (5.7%) were below normal for a non-sporting population, versus 12 of 538 (2.2%) in 2002 (5 in period C and 7 in period D). The difference between the two years was significant ( $\text{Chi}^2 = 7.63$ ,  $p < 0.05$ ), and may be attributed to the different kits used. These sportsmen and women were examined by endocrinologists to screen for adrenal insufficiency. In 2001, the FFC doctor was sent the results. Eight cyclists were temporarily banned from cycling competitions. In 2002, the actual results of the hormone tests were not sent to the FFC doctor. Only a letter stating whether or not the cyclist was eligible for competition was sent. Five of the 12 cyclists had their licenses revoked temporarily.

### **Detection of adrenal insufficiency (2001)**

The data for hormone tests for convoked subjects are presented in Tables 2 and 3. Four of the 15 cyclists undergoing complete endocrinology tests in 2001 (26.7%) had adrenal insufficiency (plasma cortisol concentration below 500 nmol/L 30 minutes after injection of 250  $\mu$ g of synacthen), four (26.7%) were considered have adrenal function at the limits of the normal range (plasma cortisol concentration between 500 and 600 nmol/L) and seven had normal adrenal function (plasma cortisol concentration above 600 nmol/L) (5). The mean time interval between sample collection of the follow-up and the short synacthen test was very long ( $38 \pm 22$  days). In consultations with the endocrinologist, 13 of these 15 cyclists claimed to have received corticosteroid treatment (Table 2). Two of the 10 cyclists who underwent simple plasma cortisol testing claimed to have received inhaled corticosteroids and one had an inverted circadian rhythm due to night work. Only 3 cyclists had plasma cortisol concentrations exceeding 500 nmol/L and 7 (including 2 receiving corticosteroid treatment) had a cortisol concentration between 287 and 500 nmol/L during the plasma cortisol testing.

*Analysis of responses to the questionnaire on the use of glucocorticoids (2002)*

*During periods C and D, 86.8% and 77% of cyclists, respectively, completed the questionnaire (Table 4). During periods C and D, 85 cyclists (15.8%) (54 in period C and 43 in period D, 12 in both periods) claimed to have received glucocorticoid treatment. The percentage of cyclists who claimed to have received corticosteroid treatment did not differ significantly according to the period or the discipline. For period C, mean baseline plasma cortisol concentration was similar in treated cyclists (T), non-treated cyclists (NT) and those who did not respond (NR) (ANOVA,  $p=0.9$ ). Conversely, for period D, a significant difference was observed between these groups (ANOVA,  $p=0.038$ ). Post hoc analysis showed that baseline plasma cortisol was lower in group T than in groups NT and NR (T versus NT,  $p=0.033$ , T versus NR,  $p=0.016$ , NT versus NR,  $p=0.5$ ). The administration routes and molecules used are summarized in Tables 5 and 6. Systematic analysis of the questionnaire revealed discordance between the observation of plasma cortisol concentrations below the reference range and the failure to declare glucocorticoid treatment. In 2002, of the 12 cyclists with plasma cortisol below the reference range, only 3 were T, 8 were NT and 1 NR. Retrospective analysis by telephone interview by the FFC doctors showed that 8 of these nine cyclists had, in fact, received glucocorticoid treatment (intraarticular, oral or intra-muscular administration, dermal application). The 11 treated cyclists with low plasma cortisol were all endurance cyclists (table 5).*

**Discussion**

*The French Public Health Code (article L 3611) was modified in 2000 to improve the protection of high-level sportsmen and women against the deleterious effects of intensive sport and to fight doping. Recent results of anti-doping tests (see below) have confirmed the widespread use of glucocorticoids by elite cyclists, both with and without a medical prescription. The potential severity of the decompensation of undetected adrenal insufficiency induced by glucocorticoids requires evaluation in a population exposed to other stresses. Indeed, competitive cycling requires intense and prolonged physical effort, sometimes in extreme conditions that can change suddenly (heat, cold, hypoxia). Cyclists are at risk of severe injuries that may require surgery and have a high risk of infections, affecting the upper respiratory tract in particular (520). It is not possible to evaluate the prevalence of adrenal insufficiency in high-level sportsmen and women by means of the insulin-induced hypoglycemia test or the metyrapone test because it is difficult to carry out such tests on a*

systematic basis in this type of population. Baseline plasma cortisol determination seems to be the only examination that can be carried out in practice. In this population, the use of salivary cortisol assay was not relevant because it is difficult to perform it in large series and a blood sample was systemically drawn for other plasmatic measurement. We therefore aimed to determine the value of measuring baseline plasma cortisol during the 2001 and 2002 seasons, during mandatory medical follow-up carried out by the FFC.

In theory, the mean of the baseline plasma cortisol concentrations of sportsmen and women were shown identical to those of the non-sporting population (521), but some authors showed it could be higher although it was in the normal range (348, 384, 519). In 2001, we found that 22 of 386 subjects (5.7%) had plasma cortisol concentrations below the reference range. These subjects were convoked by an endocrinologist for adrenal function tests, to determine whether glucocorticoids had been prescribed, and for dynamic evaluation of adrenal function if the endocrinologist deemed this necessary. Three cyclists who claimed to have received corticosteroid treatment, with cortisol concentrations higher than the lower limit but lower than 500 nmol/L, were also convoked because although these values were in the normal range, they were not high enough to rule out a diagnosis of adrenal insufficiency in a treated subject (516, 517). Interestingly, 24 of these 25 subjects were male, 23 were endurance cyclists and 7 were professional cyclists (Table 3). Ten cyclists simply underwent baseline plasma cortisol concentration determination because the endocrinologist considered the initial concentration close to the cut-off value (6 cases) or attributable to inversion of the circadian rhythm (1 cyclist who worked nights) or because the delay between the initial test and the appointment with the endocrinologist was too long (3 cases). The control showed that baseline plasma cortisol concentration was in the reference range in all cases. This suggests that these cyclists had physiological variations or transient corticosteroid-induced plasma cortisol decreasing.

Four of the 15 convoked cyclists who underwent dynamic adrenal function tests (short synacthen test, 250 µg) gave an abnormal response and four were borderline. Thirteen declared a posteriori that they had been prescribed glucocorticoids. None of the cyclists presented clinical signs of adrenal insufficiency. The high frequency of adrenal insufficiency induced by corticosteroid treatment observed here is similar to that observed in other studies (162, 164, 510). Given the long mean delay between the baseline plasma cortisol concentration test and the short synacthen test, the percentage of cyclists with adrenal insufficiency may have been higher. Hentzen et al. (164) showed that most cases of adrenal insufficiency induced by short courses of systemic glucocorticoids (less than one month and

doses >25 mg of prednisone in 24 hours) regress within two weeks, regardless of the dose or duration of the treatment. In our study, the finding that a number of cyclists continued to display adrenal insufficiency despite the long delay between the baseline plasma cortisol concentration test and the short synacthen test may be accounted for by the use of different molecules by cyclists. Tables 3 and 6 show that triamcinolone and betamethasone were commonly used in our cyclists, whereas this was not the case in Hentzen's study (164), these molecules have higher glucocorticoid activity than prednisone (126). An analysis of medical prescriptions (Tables 5 & 6) showed that glucocorticoids were mainly administered in a local form — by intraarticular infiltration, inhalation or cutaneous application. Lesions of the locomotor apparatus, diseases of the upper airways (rhinitis, bronchitis or exercise induced asthma), and perineal inflammation are common in cyclists (522). Our data suggest that the hypothalamic-pituitary-adrenal axis can be affected by the local administration of glucocorticoids, as also shown by other authors (162, 164, 510, 514, 515). We cannot however exclude the possibility that glucocorticoids were also taken illicitly in association with prescribed glucocorticoids.

We used the short synacthen test (250 µg) to evaluate corticotrope function, this test is recommended by most authors as it is easy to use and low-risk (159). However, it can be difficult to interpret the results. Indeed, when compared to the reference tests (insulin-induced hypoglycemia and metyrapone tests), falsely reassuring results are obtained in up to 50% of cases (161, 165, 523). The cut-off values (between 500 and 600 nmol/L) and the judgment criterion values (plasma cortisol after 30 minutes or peak plasma cortisol) are also a matter of debate (158). We assessed adrenal function by measuring plasma cortisol after 30 minutes, as described in most studies (163, 524, 525). Furthermore, the variety of quantification techniques used in studies of adrenal function (radioimmunoassay, chemiluminescence, fluorimetry) may well account for the observed differences (151). Finally, it is difficult to compare different studies because plasma cortisol values are expressed in nmol/L rather than standard deviation scores (SD). Given the relative lack of sensitivity of the 250 µg synacthen test, the 1 µg synacthen test is increasingly widely used (161). Recent studies have shown that this test is more sensitive than the 250 µg test, particularly in cases of adrenal insufficiency due to inhaled steroids (162), because the dose of ACTH administered is closer to that secreted in physiological conditions during acute stress (151). This test provides a more accurate means of detecting adrenal insufficiency (161). However, when carrying out this test, it is essential that the dilution method recommended by this author be rigorously respected because no 1 µg presentation is

commercially available. This test would probably have identified a larger number of cyclists with adrenal insufficiency.

Our aim was to assess the potential risk of adrenal insufficiency based on baseline plasma cortisol concentrations. Numerous studies have found a positive correlation between baseline plasma cortisol concentration (taken between 7.30am and 9.30am) and plasma cortisol concentration after stimulation with synacthen, insulin or metyrapone. However, the value of this test for the detection of adrenal insufficiency remains a matter of debate due to its lack of sensitivity (159, 516, 524). Various authors have reported that baseline plasma cortisol concentrations of below 100 nmol/L (517, 526), 120 nmol/L (516) or 200 nmol/L (164) have an excellent predictive value for adrenal insufficiency. Conversely, plasma cortisol exceeding 365 nmol/L (524), 450 nmol/L (516, 526) or 500 nmol/L (517, 527) indicates normal adrenal function. The differences between these cut-off values are probably accounted for by the use of different quantification kits (150, 151). In our study, we fixed the plasma cortisol threshold at 500 nmol/L, the highest value cited in previous studies (517, 527) corresponding to the mean baseline cortisol concentration + 1SD (527). It is difficult to compare studies because many publications do not provide information about the dispersion (SD) of baseline plasma cortisol values. It would be easier to compare threshold values (baseline or after dynamic tests) if they were expressed as means  $\pm$  SD of the baseline plasma cortisol concentration. Our study shows the value of measuring baseline plasma cortisol concentration for routine screening. When abnormally low values are detected, the 1  $\mu$ g synacthen test should be used for the dynamic exploration of adrenal function as soon as possible.

Given the results obtained in 2001, the national medical commission of the FFC decided to adopt a different attitude in 2002. In addition to sampling, a questionnaire concerning the use of glucocorticoids was analyzed. The responses to this questionnaire showed that 15.8% of cyclists had received corticosteroid treatment. This percentage is lower than the 24.6% of urine samples found to contain glucocorticoids during the 2002 Tour de France. This difference may be due to the fact that a given cyclist may have been tested several times in this stage race and because our study did not solely concentrate on professional road cyclists. Moreover, this percentage (15.8%) was probably an underestimate because it was determined on the basis of self reporting. Furthermore, the subsequent telephone survey of cyclists with plasma cortisol below the reference range revealed that 91% (8/9) of these cyclists really took a glucocorticoid treatment although they had not initially declared it. These figures confirm the extent to which this class of drug is used among cyclists. They suggest that more adrenal function tests should be carried out during routine medical follow-up of this high-risk group.

### **Conclusion**

*The high frequency of glucocorticoid use among elite cyclists, and road cyclists in particular, justifies screening tests to try to prevent acute adrenal insufficiency. Baseline plasma cortisol concentration appears to be a suitable test but is insufficient in itself. We suggest that information about the prescription should be sought and that general information about glucocorticoids should be distributed to the cyclists. We suggest that baseline plasma cortisol concentration should be used to evaluate the risk of adrenal insufficiency in this population of elite sportsmen and women. Sportsmen and women with plasma cortisol below the reference range should stop cycling and make an appointment with an endocrinologist for a 1 µg synacthen test as soon as possible. Athletes receiving corticosteroid treatment with plasma cortisol above 500 nmol/L (or the mean + 1 SD) may be considered to have normal adrenal function. We suggest that sportsmen and women receiving corticosteroid treatment with plasma cortisol between the lowest reference range value (mean – 2SD) and 500 nmol/L (or the mean + 1SD), should undergo a synacthen test as soon as possible. We believe that a dose of 1 µg synacthen is preferable to a dose of 250 µg because the resulting test is more sensitive, provided that the dilution method is strictly respected (161). In these conditions, adrenal function can be considered normal if baseline plasma cortisol concentration exceeds 500 nmol/L or, even better, the mean of the baseline values +1 SD. If the response to the synacthen test is poor, we suggest that the sportsman or woman should withdraw from competition and undergo retesting some time later, using the synacthen test or the insulin-induced hypoglycemia test.*

### **Acknowledgements**

*This study was funded by the French Ministry of Sports, by French professional cycling groups, by INSERM Unit 515 and the University Paris VI (Saint-Antoine faculty). We thank Prof. P. Thomopoulos (Endocrinology Department, Cochin Hospital Group, Saint Vincent de Paul, Paris) and Dr MC Raux-Demay (Laboratory of Functional Endocrine Explorations, Trousseau Hospital, Paris) for their scientific support. We thank Dr Dauch and his team (Laboratoire SAS, Nemours, France), Mr Charre and all the team from Marcel Mérieux Laboratories (Lyon, France) for carrying out the cortisol tests in 2001 and 2002. We also thank the representatives of the French Cycling Federation and the French League of Professional Cyclists for their help with the medical follow-up, as well as the doctors for professional sporting groups and federations that made this study possible. We thank the*

*« Conseil de Prévention et de Lutte contre le Dopage » for their support. We also thank the cyclists for authorizing us to analyze their medical follow-up data.*

*11 Article II : Effets d'une infiltration intra ou périarticulaire de glucocorticoïdes sur l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien*

En raison de l'importance du passage systémique des GC administrés par infiltrations et de la fréquence de leur utilisation en milieu sportif, nous avons voulu vérifier si ce mode de traitement était capable chez des sujets sportifs d'induire une freination de l'axe HHS ayant une signification biologique et d'apprécier la durée de cette inertie pour replacer leur utilisation par rapport au risque éventuel encouru dans la pratique compétitive.

Ainsi l'article suivant a évalué le risque d'insuffisance surrénalienne au moyen de tests dynamiques et avec les dosages d'ACTH et de cortisol basal.

# HIGH RISK OF ADRENAL INSUFFICIENCY AFTER SINGLE INTRA- OR PERIARTICULAR STEROID ADMINISTRATION IN HEALTHY YOUNG SPORTSMEN

## Extended report

M. DUCLOS<sup>1</sup>, M. GUINOT<sup>2</sup>, M. COLSY<sup>1</sup>, F. MERLE<sup>3</sup>, C. BAUDOT<sup>3</sup>, J.B. CORCUFF<sup>4</sup>,  
Y. LE BOUC<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Service Sport santé, Hôpital Pellegrin; Laboratoire Neurogénétique et Stress, INRA UMR 1243; Université Bordeaux 2, Bordeaux; <sup>2</sup>Service d'explorations fonctionnelles cardiorespiratoires, Grenoble; <sup>3</sup>Clinique du Sport de Bordeaux Mérignac; <sup>4</sup>Service de Médecine Nucléaire, Hôpital Haut-Lévêque, Bordeaux; <sup>5</sup>Laboratoire d'explorations fonctionnelles endocriniennes, Hôpital Trousseau; Université UPMC Paris VI; INSERM U515, Hôpital Saint Antoine, Paris, France.

Corresponding author : Dr Martine Duclos, Laboratoire Neurogénétique et Stress, INRA-UMR 1243, Institut François Magendie, Université Bordeaux2, 146 rue Léo Saignat, 33077 Bordeaux Cedex, France

Tel: +33 557 57 37 54

Fax: +33 557 57 37 52

E-mail: [duclos@bordeaux.inserm.fr](mailto:duclos@bordeaux.inserm.fr)

**Abstract**

**Objectives:** *To determine whether a single intra or periarticular injection of corticosteroid for post-traumatic or micro-traumatic skeletal muscle injuries in young, healthy subjects can abolish hypothalamo-pituitary-adrenal axis activity and reactivity.*

**Methods:** *10 healthy young male sportsmen (aged  $28.8 \pm 2.5$  years), received a single intra- or periarticular injection of cortivazol or betamethasone. Morning cortisol levels were measured on 4 occasions: the day of steroid injection (D0) and 2 days (D2), 7 days (D7) and 14 days (D14) later. During the second visit (D2), a short ACTH test (1  $\mu\text{g}$ ) was performed.*

**Results:** *Two days after corticosteroid administration, adrenal insufficiency (cortisol levels below 100 nmol/L and/or blunted peak cortisol after stimulation with 1  $\mu\text{g}$  ACTH) occurred in nine of the ten subjects. Seven days after steroid injection, cortisol levels were still low in all subjects ( $48.2 \pm 7.3\%$  of D0 levels) and only one subject could be considered to have clearly normal adrenal function (cortisol levels  $>500$  nmol/L). Fourteen days after steroid injection, cortisol levels remained significantly lower than preinjection levels ( $p=0.02$ ), averaging only  $77.3 \pm 8.3\%$  of D0 levels, and only three participants could be considered to have normal adrenal function. The extent of adrenal suppression depended on the dose injected.*

**Conclusions:** *As some sportsmen are exposed to a high risk of traumatism, which can lead to an acute adrenal crisis, they should be informed about the risk of adrenal insufficiency following an intra- or periarticular corticosteroid injection and of the warning signs that should incite them to consult a doctor urgently.*

**Key words:** *Hypothalamo-pituitary-adrenal axis; adrenal insufficiency; intraarticular corticosteroids; periarticular corticosteroids; sportsmen.*

### **Introduction**

*Synthetic glucocorticoids have many indications, essentially due to their anti-inflammatory properties. However, they have many side effects, which may be chronic (osteoporosis, cardiovascular risk) or acute, such as the occurrence of acute and potentially life-threatening adrenal insufficiency (115, 128, 528). The possible occurrence of these complications is not taken into account for local forms of these molecules: topical corticosteroids(115) ; intraarticular corticosteroids: (514, 515, 529-531).*

*Local glucocorticoid injections were initially used to treat chronic inflammatory forms of rheumatism, to avoid the deleterious effects of systemic administration (532). Certain studies (533, 534) rapidly suggested that passage into the bloodstream occurred and that corticosteroid infiltrations were actually a form of general corticosteroid treatment administered locally. Young et al. (533) reported that 21% (31/148) of patients with rheumatoid arthritis treated by infiltration presented an attenuation of inflammatory signs at joints other than those treated. Several studies (529, 535, 536) have since demonstrated the presence in the plasma of the corticosteroid administered injected into the joint, for various molecules. However, all these studies were carried out in subjects over the age of 40 years suffering from chronic inflammatory rheumatic diseases.*

*Given these reports of the passage of injected intraarticular corticosteroids into the bloodstream in subjects suffering from chronic inflammatory rheumatic diseases and the widespread use of this treatment in healthy subjects with post-traumatic or micro-traumatic skeletal muscle injuries, we investigated whether this treatment could also cause biologically significant hypothalamo-pituitary-adrenal suppression in healthy young subjects.*

### **Subjects and Methods**

*Ten healthy young male volunteers (mean age  $\pm$ SEM 28.8 $\pm$ 8.1 years), with a post-traumatic or micro-traumatic skeletal muscle injury underwent intra or periarticular corticosteroid infiltration. Such injuries have been established as an indication for this treatment in sports medicine. None of the subjects was taking any medication, and none had previously had general or intraarticular/periarticular corticosteroid therapy. Participants were excluded from the study if they had been treated with local corticosteroids (inhaled, transdermal) in the previous six months. None of the subjects smoked or consumed alcohol abusively. The study was approved by the hospital's ethics committee and informed written consent was obtained from all the subjects. Anthropometric data for the sportsmen and the indications for corticosteroid infiltration are described in table I.*

*Subjects were given a single intra- or periarticular infiltration by a trained physician, in the absence of X-ray or ultrasound control (Table I). None of the subjects complained of feeling unwell at the time of the infiltration. During the 14 days of follow-up, no symptom (asthenia, vomiting, nausea, sweating or feelings of hunger) suggestive of adrenal insufficiency was noted.*

*The synthetic corticosteroids used were cortivazol and betamethasone (in its dipropionate and phosphate forms), both of which are authorised for intra- and periarticular injection (see characteristics in table II). These molecules are frequently used in combination with prednisolone in post-traumatic conditions in sportsmen (511). As most of the kits used to determine plasma cortisol concentration cross-react with prednisolone (from 10% in this study to more than 70%), leading to the overestimation of plasma cortisol concentration, we decided not to include prednisolone in the treatments investigated in this study. Typical doses were adapted according to the height of the subject and the site of the injection (table I).*

*Subjects came to the laboratory for testing on four occasions, at the same time (7.15 am) on each occasion, after an overnight fast: the day of steroid injection (D0) and 2 days (D2), 7 days (D7) and 14 days (D14) later. From 7.15 to 7.30 am, all subjects were allowed to rest in a sitting position. At 7.30 am, we drew a 6 ml blood sample for the determination of plasma cortisol and ACTH concentrations. The infiltration took place on D0, 30 minutes after blood sampling.*

#### *ACTH (1-24) test*

*During the second visit (D2), a short ACTH test was carried out in all subjects {Dickstein, 1991 1223 /id}. A venous catheter was inserted at 7.15 am and the subject was allowed to rest in a sitting position for 15 minutes. A venous blood samples was then taken immediately before the intravenous injection of 1 µg of ACTH (D2 T0), and 30 minutes after the injection (D2 T30).*

#### *Hormones*

*Blood was collected in dry tubes for cortisol (3 ml) and in EDTA for ACTH (3 ml) determinations. Blood samples were centrifuged at 4 °C, and serum/plasma aliquots were stored at -20 °C until assay. All samples were run in duplicate. Serum cortisol concentrations were determined by solid phase RIA (Cortisol RIA Immunotech SMN, Immunotech, Marseilles, France). This procedure has an intra-assay coefficient of variation (CV) of 4%, 6% and 8% for serum cortisol concentrations of 940 nmol/L, 355 nmol/L and 76 nmol/L, respectively. The inter-assay CVs. were 3%, 7% and 14% for plasma cortisol concentrations of 903 nmol/L, 369 nmol/L and 97 nmol/L, respectively. The detection limit of the assay was*

16 nmol/L and normal fasting values at this time in the morning ranged between 260 and 720 nmol/L. No cross reactivity was observed with betamethasone or cortivazol. Plasma ACTH concentrations were determined by solid-phase IRMA (ACTH IRMA Immunotech SMN, Immunotech, Marseilles, France). This procedure has an intra-assay CV of 43% and an inter-assay CV of 11% for a plasma ACTH concentration of 39 pmol/L. The detection limit of this assay was 1.5 pmol/L and the normal fasting values at this time in the morning ranged between 2.0 and 11.5 pmol/L.

Subjects were considered to present cortisol suppression if fasting cortisol concentrations were below 100 nmol/L (517) and/or if i) plasma cortisol concentration 30 minutes after ACTH stimulation (D2 T30) was below 550 nmol/L (164, 537) or ii) the difference between plasma cortisol concentration at D2 T0 and D2 T30 was less than 200 nmol/L (162). On D7 and D14, a participant was considered to have normal adrenal function if fasting cortisol concentration exceeded the lower limit of the normal reference range for the kit used (260 nmol/L). However, this cut-off point does not give a reliable assessment of the efficiency of the adrenal response to stress, as many studies have reported adrenal insufficiency in pharmacological stimulation tests in patients treated with corticosteroids with plasma cortisol concentrations of up to 500 nmol/L, in the normal range of the kit (516, 517). As we did not carry out ACTH tests on D7 and D14, we therefore used a cut-off point of 500 nmol/L to define normal cortisol levels, minimising the risk of non detection of adrenal insufficiency in our subjects (516, 517), which could have very serious consequences. This choice was justified by our finding that, on D2, nine of the 10 subjects who had plasma cortisol concentrations below 500 nmol/L before ACTH stimulation (D2 T0) were diagnosed with adrenal insufficiency by the ACTH test (D2 T30).

#### Statistics

Data are presented as mean $\pm$ SEM. Wilcoxon's test was used to compare paired items. Associations between two variables were quantified using Pearson's product-moment correlation coefficient or a non-parametric test (Spearman's rank correlation coefficient) for non-normally distributed variables.  $P < 0.05$  was considered statistically significant.

#### Results

All subjects had normal pretreatment (D0) fasting cortisol ( $486.8 \pm 27.9$  nmol/L) and ACTH ( $5.3 \pm 0.5$  pmol/L) levels. Two days after corticosteroid infiltration, fasting cortisol levels were below preinjection levels in all 10 subjects (D2 vs. D0:  $p = 0.005$ ) and averaged  $18.8 \pm 6.5\%$  of D0 levels (Table III). Six of the 10 subjects had plasma cortisol concentrations below 100 nmol/L and were diagnosed as having adrenal insufficiency. Thirty minutes after the injection

of 1 µg of ACTH, three of the four subjects with an initial plasma cortisol concentration exceeding 100 nmol/L (on D2 T0) had peak cortisol concentrations below 550 nmol/L and an increase in cortisol concentration of less than 200 nmol/L : they did not pass the short ACTH test. None of the six subjects with cortisol levels below 100 nmol/L met these two criteria after the injection of ACTH. Thus, adrenal insufficiency occurred in nine of the 10 subjects after a single intra- or periarticular injection of cortivazol or betamethasone (table IV). Interestingly, before the ACTH test, ACTH was detected in the plasma of only one of the subjects, and only this subject (subject 3) passed the short ACTH test (table V).

Seven days after corticosteroid injection, fasting plasma cortisol concentrations remained significantly lower than preinjection levels ( $p=0.005$ ) in all 10 subjects, at a mean of  $48.2\pm 7.3\%$  D0 levels (Table III). Two of the 10 subjects still had cortisol levels below 100 nmol/L, and presented continuing adrenal insufficiency. Three subjects had plasma cortisol concentrations below the lower limit of the normal range on D0 (260 nmol/L) and the other five subjects presented cortisol levels below 500 nmol/L (including subject 3, who had a normal response in the ACTH stimulation test). Only subject 3 had a higher ACTH response than on D0 (291% of the D0 value), confirming the recommencement of hypothalamo-pituitary axis activity (Table V). Thus, on D7, only one of the 10 participants (subject 3) could be considered to have clearly normal adrenal function.

Fourteen days after infiltration, fasting plasma cortisol concentrations remained significantly lower than preinjection levels ( $p=0.02$ ), averaging  $77.3\pm 8.3\%$  of D0 levels. None of the subjects had a cortisol concentration below 100 nmol/L, but three subjects had cortisol concentrations below the reference range of the kit (260 nmol/L), and another four subjects presented cortisol concentrations below 500 nmol/L (subject 2 had a plasma cortisol concentration of 497 nmol/L, which was considered to be equivalent to 500 nmol/L). Thus, only three of the 10 participants could be considered to have clearly normal adrenal function. An analysis of ACTH levels showed that four subjects other than subject 3 (+260% versus D0 levels) had detectable levels of ACTH (table V): two subjects with cortisol levels above 500 nmol/L (subjects 2 and 7) and the other two subjects with cortisol concentrations close to 500 nmol/L (462 nmol/L: subject 9, 455 nmol/L subject 10).

#### *Factors influencing the decrease in plasma cortisol concentration after infiltration*

The likelihood of adrenal insufficiency occurring did not depend on the route of administration (intra- or periarticular) or the molecule administered (cortivazol or betamethasone) (table I). Two days after corticosteroid administration, basal cortisol concentration was positively correlated with initial plasma cortisol concentration before

*infiltration (D0) ( $r=0.68$ ,  $p=0.03$ ), negatively correlated with the age of the subject ( $r=-0.73$ ,  $p=0.01$ ) and tended to be negatively correlated with the dose of corticosteroid (in prednisone equivalents) administered per unit body weight ( $r=-0.58$ ,  $p=0.07$ ). Conversely, the cortisol response to ACTH stimulation (D2 T30) was negatively correlated with the dose of corticosteroid (in prednisone equivalents) administered per unit body weight ( $r=-0.70$ ,  $p=0.02$ ) and positively correlated with plasma cortisol concentration before ACTH stimulation (D2 T0) ( $r=0.79$ ,  $p=0.006$ ).*

*On D7, plasma cortisol concentration tended to decrease with the dose (in prednisone equivalents) administered per unit body weight ( $r=-0.61$ ,  $p=0.05$ ), with a significant threshold reached on D14 ( $r=-0.68$ ,  $p=0.02$ ).*

### **Discussion**

*In this study, a single intra or periarticular injection of cortivazol or betamethasone in healthy young leisure sportsmen with no history of prior corticosteroid injection and/or intake induced adrenal suppression in nine of the 10 subjects studied after two days. This adrenal suppression was associated with a lack of response of the adrenal glands to stimulation with ACTH (1  $\mu$ g). This suggests that these sportsmen are at high risk of adrenal crisis in cases of traumatism, infection or surgery (115, 128, 528). Cortisol levels remained low seven days after the intra or periarticular administration of cortivazol or betamethasone in nine of the 10 subjects, seven of whom had still not recovered normal adrenal function two weeks later.*

*Although we did not measure the plasma or urine concentrations of cortivazol or betamethasone, these results clearly reflect the passage into the bloodstream of these corticosteroids, as demonstrated in previous studies following the intraarticular administration of hydrocortisone (536), prednisolone acetate (535) or methylprednisolone (529). No previous study has investigated serum cortivazol or betamethasone concentrations following intra- or periarticular injection. Several factors are likely to influence the passage into the bloodstream of corticosteroids administered via the intraarticular route. There seems to be a dose-dependence relationship, because it has been shown that the peak plasma concentration of the corticosteroids administered is proportional to the dose administered (529, 535, 536). Our results confirm these previous findings, because we found a negative correlation between the dose of corticosteroids administered, in prednisolone equivalents and per unit body weight, and cortisol concentration two days later, before and after ACTH tests. Furthermore, the only subject with no significant hypothalamo-pituitary-adrenal suppression (subject 3) received the lowest dose. The bioavailability of*

corticosteroids also depends on the area over which synovial/bloodstream exchanges take place, as it has been shown that the plasma concentration of the corticosteroids administered is proportional to the number of joints treated (529). Unlike all the patients in previous studies, who had chronic inflammatory rheumatism, the sportsmen in our study suffered from a condition of mechanical origin, with no underlying joint diseases comparable to the hypertrophy and hypervascularisation observed in rheumatoid arthritis. The surface available for exchanges between the joint cavity and the plasma was therefore presumably smaller in our subjects. Surprisingly, the frequency of adrenal insufficiency in our study was at least equivalent to (90% in this study vs. 83% (515) and 64-81% (529)), if not higher than (48% pour (530)) that reported for subjects with rheumatoid arthritis, 24 to 48 h after intraarticular corticosteroid administration. This difference may be due to some of these infiltrations not being truly intraarticular. Indeed, intraarticular infiltration was carried out without X-ray control in seven of the 10 sportsmen. It has been shown that only about one third of infiltrations carried out without X-ray control are truly intraarticular (538). Moreover, even if carried out by an experienced doctor, periarticular infiltration may lead to the product being delivered to or diffusing into neighbouring tissues (subcutaneous tissues, muscles or vessels). As suggested by Young et al. (533), these observations suggest that all or some of the anti-inflammatory and analgesic effects of corticosteroid infiltrations are mediated by the systemic action of these drugs.

The type of corticosteroid administered may also account for differences between this and other studies. We used a soluble product with a long half-life (betamethasone) and a microcrystalline suspension (cortivazol), which also has a long half-life in the body (reviewed in (511)). Most previous studies have investigated the systemic effects of the local administration of corticosteroids in soluble galenic forms with shorter half lives (methylprednisolone) (515, 529, 530).

The major consequence of the passage of corticosteroids into the bloodstream is the occurrence of crude adrenal insufficiency. Indeed, the injected corticosteroids exert a negative feedback effect on the hypothalamo-pituitary axis, decreasing adrenal cortisol secretion. Although mineralocorticoid function is spared, this situation may lead to acute adrenal insufficiency, a life-threatening complication if the need for cortisol increases rapidly and markedly (in cases of severe infection and traumatism, surgical interventions, dehydration etc.) (115, 128, 528, 531). Such situations frequently occur in certain sporting disciplines with a high risk of infection and traumatism and in sports in which conditions may be extreme (in terms of temperature and hypoxia for example). This inhibition of the

*hypothalamo-pituitary-adrenal axis following the injection of corticosteroids into joints has been reported in some studies in patients suffering from rheumatoid arthritis (514, 535, 539). However, most studies have reported only a decrease in basal cortisol concentration. Plasma cortisol concentration is not sufficient for evaluation of the risk of adrenal insufficiency in conditions of major stress, with the exception of very low concentrations, the threshold for which depends on the study considered: from 100 nmol/L (516, 517) to 185 nmol/L (164). Indeed, several studies using pharmacological stimulation tests have demonstrated adrenal insufficiency in patients previously treated with corticosteroids, even if those patients have plasma cortisol concentrations in the normal range for the kit used (516, 527), right up to basal concentrations of 500 nmol/L (516, 517). For this reason, we used a cut-off point of 500 nmol/L to define normal cortisol levels on D7 and D14, to minimize the risk of missing adrenal insufficiency in our subjects (516, 517). The results of ACTH stimulation tests confirmed that this decision was correct. Two days after intra- or periarticular corticosteroid injection, six subjects had a plasma cortisol concentration below 100 nmol/L. However, complementary dynamic explorations of adrenal function (stimulation tests with 1 µg of ACTH) led to the diagnosis of three additional cases in which plasma cortisol concentration before stimulation exceeded 100 nmol/L (but was below 500 nmol/L), confirming published results.*

*Few studies have used adrenal function stimulation tests after local infiltrations of corticosteroids. Koehler et al. (515) demonstrated an absence of adrenal response in an insulin-induced hypoglycaemia test in five of six patients who had received an intraarticular infiltration of methylprednisolone 48 h earlier. Kay et al. (540) reported that five of 14 patients did not respond to 150 µg of ACTH 48 hours after an epidural infiltration of corticosteroids. Only Esselinckx et al. (541) reported no difference in ACTH response between eight patients receiving intraarticular injections of triamcinolone or hydrocortisone acetate and control subjects receiving oral dexamethasone. However, the ACTH test carried out involved an eight-hour intravenous infusion of ACTH, corresponding to non-standardised, supraphysiological stimulation of the adrenal glands. The different screening tests for adrenal insufficiency used in previous studies may, to some extent, account for discrepancies between studies. The insulin-induced hypoglycaemia test has been considered the gold standard for diagnosis of adrenal insufficiency, but this test is expensive, uncomfortable and potentially dangerous (158, 161). By contrast, the low-dose (1 µg) ACTH test is well tolerated, its results are closely correlated with those of the insulin-induced hypoglycaemia test, and its performance is better than that of the standard (250 µg) short ACTH test (157, 165, 542).*

Indeed, during the supraphysiological 250 µg ACTH test, the adrenal glands are exposed to at least 1000 times the dose required for maximal adrenal stimulation (Landon, 1967), whereas 1 µg of ACTH is sufficient to cause ACTH stimulation and to give cortisol levels similar to those achieved in insulin-induced hypoglycaemia. Lastly, Dickstein et al. (161) have demonstrated that 1 µg of ACTH causes a cortisol response similar to that obtained with 250 µg ACTH at 30 minutes. We therefore used the 1 µg ACTH test to investigate adrenal insufficiency in our subjects. Only Mader et al. (530) have previously used this 1 µg ACTH test after intraarticular methylprednisolone injection in patients with rheumatic diseases. Low fasting cortisol levels (<147 nmol/L) and/or a blunted peak cortisol response to ACTH were detected in 12 of 25 patients (48%) after one day, in three of 25 patients (12%) after one week and in two of 25 patients (8%) two weeks after intraarticular methylprednisolone injection.

The duration of post-corticosteroid treatment adrenal insufficiency is a major concern in sportsmen, in whom the adrenal gland may be subjected to much stronger constraints during competition and training than occur in sedentary individuals, and who may at any time suffer decompensation of this latent adrenal insufficiency. Henzen et al. (164) showed that adrenal insufficiency generally resolved within two weeks of short-term, high-dose glucocorticoid treatment (at least 25 mg prednisone daily for five to 30 days). However, in their series, two patients continued to present adrenal insufficiency 30 days after the end of corticosteroid treatment. Reid et al. (543) showed in stimulation tests with 250 µg of ACTH and in insulin-induced hypoglycaemia tests that this adrenal insufficiency could persist for up to seven weeks after the last infiltration. In our study, 14 days after infiltration, only two of the nine subjects initially presenting adrenal insufficiency could be considered to have recovered normal adrenal function (516, 517).

### **Conclusion**

These results demonstrate that recreational sportsmen have a high risk of adrenal insufficiency following a single corticosteroid infiltration, despite the absence of diseases blunting the response of HPA axis, such as inflammatory rheumatism, which tends to affect older individuals, and of joint conditions similar to those observed in patients with inflammatory rheumatism (hypertrophy and hypervascularisation). Although we are dealing here with biological forms of adrenal insufficiency, the risk of acute adrenal insufficiency is probably underestimated, given the difficulties involved in the clinical detection of crude forms of acute adrenal insufficiency in active subjects (115). This risk is likely to increase as the practice of corticosteroid injection increases among sportsmen. It should be stressed that this risk of adrenal crisis in healthy subjects is disproportionate with respect to the expected

*(but not yet demonstrated) benefit of this type of treatment. Further studies are necessary to demonstrate the efficacy of corticosteroids in periarticular and intraarticular conditions without synovial involvement and to determine more precisely the dose-effect relationship.*

*Finally, we feel that all subjects undergoing corticosteroid infiltrations should be informed of the risks of adrenal insufficiency and of the danger signs that should lead them to consult a doctor urgently. It would be prudent to prohibit patients from all sporting or professional activities with a high risk of traumatism or infection for a period of two weeks after treatment, corresponding to the period in which adrenal function is most disturbed.*

### ***Acknowledgements***

*We would like to thank Beckman Coulter Laboratories for generously supplying kits for hormone assays: Cortisol RIA (#2030) and ACTH IRMA (#1841) (Immunotech Marseilles, France). This work was supported by INRA-UMR 1243, INSERM U515 and Université UMPC-Paris VI.*

**Table I: Clinical data for the 10 participants and abnormal fasting and ACTH-stimulated cortisol levels following intra- or periarticular cortivazol or betamethasone injection**

Subject number	Age (years)	Height (cm)	Weight (kg)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	Joint treated	Diagnosis	Type of injection	Dose (mg)	Prednisone equivalents	Prednisone equivalents (mg/kg)	Cortisol levels		
											D2	D7 D14	
1	32	176	80	23.6	Ankle	Posterior ankle impingement	PA	C	3.75	62.5	0.78	L	L
2	24	188	117	31.8	Ankle	Posterior ankle impingement	PA	C	3.75	62.5	0.53	L	L
3	27	170	90	27.7	Wrist	Radiocarpal chondroma	IA	C	1.87	31.25	0.35	N	L
4	27	180	77	22.1	Ankle	Posterior ankle impingement	PA	C	3.75	62.5	0.81	L	L
5	24	190	87	23.3	Knee	Chondral knee lesions	IA	B	7.00	46.6	0.54	L	L
6	21	184	89	24.9	Ankle	Anterior ankle tendonitis	IA	C	3.75	62.5	0.70	L	L
7	36	178	75	21.8	Knee	Femur patella chondritis	IA	B	7.00	46.6	0.62	L	L
8	43	180	78	22.4	Knee	Chondral knee lesion	IA	C	3.75	62.5	0.80	L	L
9	17	180	80	23.0	Knee	Chondral knee lesion	IA	B	7.00	46.6	0.58	L	L
10	37	183	82	23.1	Knee	Chondral knee lesion	IA	C	3.75	62.5	0.76	L	L
Mean	28.8	1.81	85.5	24.4							0.65		
± sem	± 2.5	± 0.60	± 3.8	± 3.1							± 0.15		

All participants had normal cortisol levels at baseline. BMI: body mass index; PA: periarticular; IA: intraarticular; GC: glucocorticoid; B: betamethasone; C: cortivazol; N: normal; L: low.

On D2, a subject was considered to have a low cortisol concentration if fasting cortisol levels were below 100 nmol/L and/or if i) plasma cortisol concentration 30 minutes after ACTH stimulation (D2 T30) was below 550 nmol/L and/or the difference between plasma cortisol concentration at D2 T0 and D2 T30 was less than 200 nmol/L. On D7 and D14, a subject was considered to have low cortisol levels if fasting cortisol concentration was below 500 nmol/L (see materials and methods).

*Table II: Characteristics of the glucocorticoids used*

	<b>Cortivazol</b>	<b>Betamethasone</b>
<b>Biological Half-life (h)</b>	> 60	36 – 54
<b>Presentation in syringe (ml)</b>	1.5	1
<b>Dose per syringe (mg)</b>	3.75	7
<b>Dose used in routine practice (ml)</b>	0.5 to 1.5	0.25 to 2
<b>Prednisone equivalents per syringe (mg)</b>	62.5	46.6

**Table III: Plasma cortisol levels [C] before (D0), 2 days (D2), 7 days (D7) and 14 days (D14) after a single betamethasone or cortivazol intra- or periarticular injection in healthy young subjects. Values are expressed in nmol/L and as a percentage (%) of preinjection (D0) levels.**

Subject number	D0		D2 T0		D7		D14	
	[C] (nmol/L)	(%)	[C] (nmol/L)	(%)	[C] (nmol/L)	(%)	[C] (nmol/L)	(%)
1	372	100	19	5	19	5	193	52
2	681	100	282	41	428	63	497	73
3	581	100	345	59	381	66	551	95
4	455	100	22	5	307	68	414	91
5	398	100	19	5	231	58	335	84
6	484	100	175	36	237	49	249	51
7	479	100	16	3	328	68	531	111
8	450	100	16	3	59	13	120	26
9	492	100	129	26	297	60	462	94
10	476	100	16	3	154	32	455	95
<b>Mean</b>	<b>486.8</b>	<b>100</b>	<b>103.9</b>	<b>18.8</b>	<b>244.1</b>	<b>48.2</b>	<b>380.7</b>	<b>77.3</b>
<b>±</b>	<b>±</b>	<b>±</b>	<b>±</b>	<b>±</b>	<b>±</b>	<b>±</b>	<b>±</b>	<b>±</b>
<b>SEM</b>	<b>27.9</b>	<b>0</b>	<b>39.4</b>	<b>6.5</b>	<b>42.1</b>	<b>6.0</b>	<b>47.2</b>	<b>8.3</b>

*Table IV: Analysis of the cortisol response to stimulation with 1 µg ACTH two days (D2) after single intra- or periarticular injection of cortivazol or betamethasone in 10 healthy subjects*

Subject number	Cortisol T0 before ACTH (nmol/L)	Cortisol T30 minutes after ACTH (nmol/L)	Interpretation
1	19	445	Abnormal
2	282	481	Abnormal
3	345	574	Normal
4	22	273	Abnormal
5	19	423	Abnormal
6	175	279	Abnormal
7	16	225	Abnormal
8	16	164	Abnormal
9	129	320	Abnormal
10	16	212	Abnormal
<b>Mean</b>	103.9	339.6	
<b>±</b>	±	±	
<b>SEM</b>	39.4	42.3	

*Table V: Plasma ACTH levels before (D0), 2 days (D2), 7 days (D7) and 14 days (D14) after a single betamethasone or cortivazol intra- or periarticular injection in healthy young subjects. The detection threshold was 1.5 pmol/L.*

Subject number	ACTH D0 (pmol/L)	ACTH D2 T0 (pmol/L)	ACTH D7 (pmol/L)	ACTH D14 (pmol/L)
1	4.0	<1.5	<1.5	<1.5
2	5.5	<1.5	4.37	8.2
3	8.1	6.64	23.7	21.2
4	3.0	<1.5	<1.5	<1.5
5	4.9	<1.5	<1.5	<1.5
6	6.3	<1.5	<1.5	<1.5
7	3.1	<1.5	<1.5	<1.5
8	4.0	<1.5	<1.5	<1.5
9	7.3	<1.5	8.03	8.4
10	6.4	<1.5	<1.5	11.1
<b>Mean</b>	<b>5.3</b>			
<b>±</b>	<b>±</b>			
<b>SEM</b>	<b>0.5</b>			

## 12 *Article III : Intérêts du dosage du cortisol plasmatique chez des cyclistes élités*

Les différentes études de la littérature ont montré que les adaptations provoquées par la pratique intensive du sport sur la concentration plasmatique de cortisol sont sujettes à débat, en dehors des aspects pathologiques qui lui sont associés.

L'objectif de ce travail était de décrire la cortisolémie chez des cyclistes élite en fonction du type de discipline pratiquée du sexe et à différents moments de la saison de compétition. Nous nous sommes focalisés sur les valeurs hautes de façon à discuter les éléments qui pouvaient soit relever de la pathologie (dopage, restriction alimentaire) soit être des adaptations.

Par ailleurs, ce travail propose également une analyse de la variation intraindividuelle qui permet de distinguer à partir de quand la différence entre deux prélèvements devient pathologique.

## VALUE OF PLASMA CORTISOL DETERMINATION IN ELITE CYCLISTS

Michel Guinot<sup>1,2,3</sup>, Martine Duclos<sup>5</sup>, Jean-Claude Souberbielle<sup>6</sup>, Armand Mégret<sup>3</sup>, Yves Le Bouc<sup>2,4</sup>

1. CHRU Grenoble, Hop Sud, Service d'Explorations Fonctionnelles Cardiorespiratoires, Unité Fonctionnelle de Biologie et de Médecine du Sport, Antenne prévention et de lutte contre le dopage, Grenoble, F-38000 France.
2. Assistance Publique Hop Paris, Hop Trousseau, Explorations Fonctionnelles endocriniennes, Paris, F-75012 France ; Inserm, U515, Paris, F-75012 France; INSERM, U515, Paris, F-75012 France.
3. Fédération française de Cyclisme, Rosny sous Bois, F-93500 France.
4. Univ Pierre et Marie Curie Paris VI, Paris, F-75000 France
5. INRA, UMR 1243, Bordeaux, F-33000 France ; Univ Bordeaux 2, Bordeaux, F-33000 France ; CHRU Bordeaux, Service Sport Santé, laboratoire de Neurogénétique du Stress, Bordeaux, F-33000 France.
6. Assistance Publique Hop Paris, Hop Necker, Service d'Explorations Fonctionnelles, Paris, F-75015 France.

Corresponding author:

Michel Guinot, Antenne médicale de prévention et de lutte contre le dopage, Hôpital Sud, F-38042 Grenoble Cedex France.

Tel : 33 4 76 76 93 03; Fax: 33 4 76 76 89 21; e-mail: Mguinot@chu-grenoble.fr

Key words: Hypothalamo-pituitary-adrenal axis, elite sportsmen, doping, seasonal variation

**ABSTRACT**

*Elite sportsmen are subjected to physical and psychological strains to which they must adapt. Certain adaptive responses, such as abnormal eating behaviour and doping, may modify hormonal homeostasis. Basal plasma cortisol concentration may increase during severe depression or restricted calorie intake and may decrease after corticosteroid therapy. As these situations may also affect elite sportsmen, we assessed the value of plasma cortisol determination as part of the mandatory medical follow-up carried out by the French Cycling Federation.*

*In 2003, we determined the basal plasma cortisol concentrations of 1549 serum samples. These samples were obtained from 482 elite cyclists (67 women and 415 men) with a mean age of  $25.5 \pm 4.8$  years. Six (0.4%) and 352 (22.4%) cortisol concentrations, were above and below the reference range, respectively. Mean basal plasma cortisol concentration ( $507 \pm 210$  nmol/L) was higher in these cyclists than would be expected for a population of non-sportsmen. Mean basal plasma cortisol concentration was also influenced by the period of intense cycle training and category: it was higher in spring and summer than in autumn ( $p < 0.001$ ) and in professionals than in amateurs ( $p < 0.001$ ). Surprisingly, cyclists who declared having received corticosteroid therapy ( $n = 102$ ) did not have lower plasma basal cortisol concentrations than non-treated cyclists ( $n = 380$ ) ( $p = 0.223$ ), probably because this concentration was determined too long after corticosteroid treatment.*

*Our results demonstrate that intensive cycling increases plasma basal cortisol concentration, with possible physiopathological implications. Low plasma cortisol concentrations may indicate corticosteroid-induced inhibition of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and should lead to tests for adrenal insufficiency. High concentrations may be iatrogenic (high cortisol-binding globulin levels, cross-reaction with synthetic corticosteroids or corticotrophin abuse) or related to intensive training. However, high basal plasma cortisol concentrations do not necessarily indicate high levels of daily cortisol secretion and complementary investigations should be carried out to rule out hypercorticism.*

**Introduction**

*There are about 6000 elite sportsmen and women in France. These individuals must excel at their sports and compete in international competitions. This requires them to push themselves continually to the limit, generating potential mental strains in addition to the physical strains inherent in intensive sporting activities. High-level sport may therefore be considered to constitute a model of cardiovascular, osteoarticular, hormonal, metabolic and mental strain*

to which the sportsperson must develop adaptive responses (373). In particularly vulnerable subjects, these responses may involve behaviour deleterious to health (eating disorders, doping, overtraining) and may lead to hormonal modifications.

The hypothalamic-pituitary-adrenal axis is known to play an important role in stress adaptation and the triggering of stress-linked diseases (21, 373). The hyperactivity of this axis reported in depressive and malnourished patients (374, 375), may also be observed in sportsmen subjected to repeated strain and/or energy deficit.

Acute muscular exercise is thought to increase plasma cortisol concentration, provided that it is intensive and prolonged (40). Plasma cortisol concentration returns to basal values two to three hours after exercise or during the night following intense muscular effort (50, 360). Basal plasma cortisol concentration some time after muscular effort should therefore not be affected in subjects undergoing intensive sports training (44, 50, 544). However, several studies have reported an increase in plasma basal cortisol concentration in such subjects (348, 381-383, 519). Some studies have reported disturbances in resting HPA axis function: changes in heart rate (348), or increases in urinary free cortisol concentration in female athletes with amenorrhoea (84). Others have demonstrated an association between increases in basal cortisol concentration and weight loss due to an energetic imbalance in gymnasts (382).

Glucocorticoids are often used in the sporting environment, either for authorised treatment purposes ([www.wada-ama.org](http://www.wada-ama.org)) or for prohibited doping purposes (545). These drugs may decrease plasma cortisol concentration via hypothalamic-pituitary feedback, and may even cause indefinite adrenal insufficiency, the acute complications of which may be life-threatening in certain stress conditions (115, 128).

Given the possible repercussions of intensive sporting activities on the HPA axis and the deleterious effects of probable repeated glucocorticoid administration in elite sportsmen, we investigated changes in plasma cortisol concentration in a population of elite cyclists during the competition season and during a rest period, during mandatory medical follow-up by the French Cycling Federation (FFC). We also analysed intra-individual variation in plasma cortisol concentration, with the aim of detecting non-physiological variations in cortisol levels.

## **Cyclists, materials and methods**

### **Cyclists**

*In accordance with Article L 3611 of the French Public Health Code and the regulations of the International Cycling Union (<http://www.uci.ch>), the FFC requires all elite amateur cyclists to give three blood samples during the competition season (spring, summer and autumn) and all professional cyclists to give four blood samples (winter, spring, summer and autumn). The national medical commission of the FFC and the elite cyclists agreed to allow us to base our study on the results of this follow-up.*

*For each sample, blood formula, red blood cell counts, iron reserves and certain hormonal parameters (levels of testosterone, insulin-like growth factor 1, cortisol) and bone metabolism factors (osteocalcin levels) were determined to screen for intercurrent infection and risky behaviour (eating disorders, doping, overtraining). We recently demonstrated the value of this follow-up in screening for iatrogenic haemosiderosis (15).*

*In 2003, basal plasma cortisol determinations were carried out at a single laboratory on three occasions for amateurs and on four occasions for male professional road cyclists. Of the initial population of 683 cyclists, we included in the analysis only the 482 who gave all the required samples at the same laboratory. Indeed, a large proportion of professional cyclists do not live in France and it was therefore impossible to analyse certain samples for these non-resident cyclists. Some of the amateur cyclists did not give all three samples. In some cases, this was because they were not registered at the start of the season (spring) when the first tests were carried out, and in others, they were exempted from testing due to illness or injury or abandoned the competition mid-season. The characteristics of the subjects are presented in table I. Due to the small numbers of cyclists in certain disciplines, cyclists involved in road racing, cyclocross, pursuit races and cross country were grouped together in the “endurance” category, whereas those involved in indoor speed trials, descent and BMX racing were grouped together in the “resistance” category. The women were all grouped together in a single category because, of the initial sample of 67 (46 practising endurance disciplines and 21, resistance disciplines), only 32 remained if subjects using oral contraception based on ethinylestradiol were excluded.*

*The characteristics of the cyclists were investigated by means of a self-completed questionnaire filled in at the time of blood sampling. Cyclists were asked to give their weight and height and to estimate their form on a visual numerical scale from 1 to 10. A value of 1 corresponded to “poor form” and a value of 10 to “excellent form” (546). They were also*

asked to state whether they had been treated with glucocorticoids (GCs) in the previous three months, regardless of the route used for administration. Women were also asked whether they used contraception and, if they did, to specify the type of contraception used. The person collecting the sample also checked the subject's personal details (sports licence and ID).

### **Determination of plasma cortisol concentration**

A blood sample was taken from the antecubital vein after an overnight fast, between 7.30 and 9.30 am. The blood was centrifuged and the resulting serum was dispensed into aliquots, which were then frozen at  $-20^{\circ}\text{C}$ . The frozen samples were transferred within 24 to 48 hours to a central laboratory for analysis.

Plasma cortisol concentration was determined by direct chemiluminescence (Centaur Cortisol, Bayer Diagnostic®). The intraseries and interseries coefficients of variation were 3.7% and 5.5%, respectively for a cortisol concentration of 107 nmol/L, 2.9% and 3.1%, respectively, for a concentration of 390 nmol/L and 1.9% and 3.8%, respectively, for a concentration of 760 nmol/L. Cross reaction with synthetic GCs was observed in 27% of cases for prednisolone, 20.9% of cases for methylprednisolone and 6.6% of cases with prednisone. No cross reactions with other synthetic GCs were observed. The reference values obtained with the kit for sedentary individuals, between 7.30 and 9.30 am, were between 119 nmol/L and 619 nmol/L.

### **Determination of the intra-individual coefficient of variation**

We calculated a seasonal intra-individual coefficient of variation (CVI) for all amateur cyclists who had given three samples and professional cyclists who had given four samples:

$$CVI_i (\%) = \text{Standard deviation/mean of samples for the individual concerned}$$

The mean  $CVI_i$  value reflects the intra-individual variation of the entire population (314).

An analysis of intra-individual variability can be used to determine whether the difference between two samples is physiological. Two approaches may be used for such an analysis: least significant change (LSC) (301) or minimum significant change (MSC) (303):

$$\begin{aligned} LSC &= 1.96 \times \sqrt{2} \times \sqrt{(CVA^2 + CVI^2)} \quad (CVA \text{ and } CVI \text{ expressed as percentages}) \\ MSC &= 2 \times CVI \end{aligned}$$

CVA is the mean interseries analytical coefficient of variation of the kit used for determination: 4.13% for the kit used here.

### **Statistical analysis**

We used SPSS version 12.0 for Windows (SPSS, Chicago Inc, USA). After checking that the variables were normally distributed, we carried out one-way and two-way (category and season effects) repeated-measures ANOVA or Student's *t* tests, to compare the means of independent samples. We used Bonferroni's test for post hoc analysis if the hypothesis of equal variance was accepted and Tamhane's *T*<sub>2</sub> test if this hypothesis was rejected. Values of *p* less than 0.05 were considered significant.

## **Results**

### **Differences in characteristics according to category**

Professional road-race cyclists were older than amateur endurance cyclists and female cyclists, who were in turn older than amateur resistance cyclists (table I). Endurance cyclists had a lower body mass index (BMI) than resistance cyclists. Professional cyclists were more likely to have been treated with GCs.

### **Fluctuations in plasma cortisol concentration**

The distribution of plasma cortisol concentrations is shown in figure 1 and table II. Mean plasma cortisol concentration for the entire population of cyclists tended to be higher than the values obtained for sedentary individuals, but remained in the range of normal values. The mean plasma cortisol concentration obtained was  $507 \pm 210$  nmol/L, whereas the expected mean, based on the reference values of the kit, was  $369$  nmol/L  $\pm 125$ .

Six of the concentrations obtained (0.4%) were below, and 352 (22.7%) were above the lower and upper limits, respectively, of the range of reference values of the kit used (figure 1). Four of the six concentrations below the reference values were obtained from cyclists treated with corticosteroids and one was obtained from a cyclist with jet lag who declared to not have been treated with corticosteroids. Of the 352 concentrations above the reference values of the kit, 271 (77.0%) were obtained from male cyclists, and 81 (23.0%) were obtained from female cyclists (67 taking oral contraception, 12 not taking oral contraception and 2 for whom information about pill use was not obtained). Two determinations for professional cyclists gave extremely high concentrations (4500 and 4745 nmol/L) for the samples taken in spring, accounting for the high variance of plasma cortisol concentration in this category, for this period. Subsequent interviews with the cyclists concerned provided no rational explanation, as the plasma cortisol determination carried out ten days later showed a return to values within the reference range for the kit. It appears highly likely that these two cyclists had used a substance to stimulate adrenal corticoid production or that gave a cross reaction in the test used.

**Effect of category**

Plasma cortisol concentration was higher in professional cyclists than in amateur male cyclists and female cyclists (tables II and III). Intra-individual variation did not differ significantly between categories, although professionals and female cyclists tended to have total CVI values higher than those of male amateur cyclists (table III).

We excluded the plasma cortisol concentrations of women taking oral contraception from the analysis because oestrogen intake increases corticosteroid-binding globulin concentration, thereby artificially increasing total cortisol concentration (142). Mean plasma cortisol concentration was significantly higher in women on contraception than in women without contraception ( $724 \pm 20.5$  versus  $467 \pm 15.5$  nmol/L ( $p < 0.001$ )). Indeed, of the 106 samples taken from women, 67 were taken from women on oral contraception and were higher than the reference values. These results justify our decision to analyse only the results for the group of women without oral contraception. For all categories of cyclist, after the exclusion of samples from women on oral contraception, we found no evidence of a statistically significant correlation between plasma cortisol concentration and age ( $r = 0.04$ ;  $p = 0.129$ ), weight ( $r = -0.02$ ;  $p = 0.474$ ) or body mass index ( $r = -0.02$ ;  $p = 0.486$ ). However, a positive correlation was found between form score and plasma cortisol concentration ( $r = 0.091$ ;  $p = 0.002$ ).

**Effect of season**

Plasma cortisol concentration varied with season (table III). For professional cyclists, it was maximal in winter (start of the training period), decreased during the competition season (spring and summer) and was minimal in autumn (when the level of cycling activity decreased markedly or the subject stopped cycling altogether). For amateurs, plasma cortisol concentration was also higher during the competition season (spring and summer) than in autumn. The plasma cortisol concentrations of cyclists who had been active during the week preceding blood sampling were higher than those of cyclists who had been resting (table IV). It should be noted that 180 of the 240 determinations (75%) during resting periods were carried out on samples taken in the autumn. However, plasma cortisol concentration did not vary significantly according to the type of cycling activity (training only versus competition) in the week preceding blood sampling (table IV).

**Effect of corticosteroid treatment**

Of the 1443 samples analysed in spring, summer and autumn, 199 (14.9%) were taken from 102 cyclists (21.1% of the sample) who declared having been treated with GCs, whereas 1133

(79.5%) were taken from untreated cyclists (tables II and V). Plasma cortisol concentrations did not differ significantly between these two groups ( $513 \pm 330$  and  $502 \pm 188$  nmol/L, respectively;  $p = 0.223$ ). However, the  $CVI_i$  for plasma cortisol concentration of cyclists who declared corticosteroid treatment for at least one of the samples was higher than that for untreated subjects ( $24.7 \pm 1.7\%$  versus  $21.1 \pm 0.7\%$ ,  $p = 0.026$ ).

### **Discussion**

The major, repeated, physical and mental strains experienced by elite cyclists, together with the high frequency of GC use by this group (545), are likely to affect the functioning of this endocrine axis (164, 373). The FFC felt that determination of plasma basal cortisol concentration was the most suitable method for analysing HPA function at rest. According to endocrinological recommendations, the determination of plasma basal cortisol concentration should be associated with the determination of 24-hour urinary free cortisol concentration and the determination of plasma cortisol concentration between 6 pm and 8 pm (or at midnight), to assess total cortisol production over 24 hours and maintenance of the circadian rhythm, respectively (166). However, these complementary analyses are difficult to carry out in a regulatory context and it would be difficult to collect urine in a controllable manner from non-institutionalised sportsmen from all over the country. This is particularly true for dynamic explorations, such as the Synacthène® or insulin-induced hypoglycaemia tests. We recently demonstrated the value of determining cortisol concentration at 8 am for the screening of indefinite adrenal insufficiency secondary to GC use in subjects with low plasma cortisol concentrations (545).

We compared the reference values of the kit, obtained with healthy sedentary subjects, with those obtained in the cyclists. It is difficult to establish norms for elite sportsmen because of the potential effects of intensive practice (for all sports) on the HPA axis, and the use of products for doping purposes cannot be evaluated precisely.

In 2003, 0.4% of the plasma cortisol concentrations obtained from elite cyclists were lower than the reference range, and 22.7% were higher. Surprisingly, the frequency of low values was lower than recorded in 2002 (545), despite high levels of declared GC use. It is possible that information and prevention programmes targeting cyclists and medical investigations to screen for adrenal insufficiency have limited the use and misuse of GCs.

About a quarter of the plasma cortisol concentrations recorded for the cyclists exceeded the upper limit of the reference range of the kit. This observation of high plasma cortisol concentrations is consistent with the results of studies carried out in highly trained sportsmen,

*suggesting that intensive sporting activities have an effect on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (84, 348, 381-384, 519). Indeed, Hoogeveen et al. (381) reported that restarting training induced an increase in basal cortisol concentration in professional cyclists. A similar increase was reported by Filaire et al. (383) in a study comparing saliva cortisol concentration in female volleyball and handball players at national level with those in sportswomen playing at regional level and sedentary women.*

*There are several possible reasons for the high values obtained for elite cyclists. In most cases, the increase in plasma cortisol concentration probably reflects the direct effects of intensive cycling activity on cortisol secretion because it is correlated with the intensity of sporting activity and the type of sporting activity. Our results show that, for all categories, plasma cortisol concentration was high during periods of sporting activity and decreased during resting periods. Conversely, having participated in a competition in the days immediately preceding blood sampling had no more effect on plasma cortisol concentration than training alone. The high frequency of repetitive cardiovascular, mental and metabolic strains in these cyclists probably leads to an increase in plasma cortisol concentration, corresponding to an adaptation to this repeated stimulation (373). This increase enables the hypothalamic-pituitary-adrenal axis both to protect the body during muscular effort and to prepare the body for subsequent efforts (21). Cortisol facilitates the reconstruction of glycogen stores after muscular effort because it increases the production of metabolic substrates (amino acids, glycerol) by peripheral tissues; these substrates are then transformed into glucose in the liver, activating glycogen synthase and stimulating the activity of enzymes involved in de novo gluconeogenesis (126). Insufficient replenishment of glycogen stores and the increase in glucose demand in sportsmen with intensive activity and little recovery time (professional sportsmen in particular) may lead to an increase in plasma cortisol concentration mediated by interleukins, such as interleukin-6 in particular (134). Interleukins may also stimulate cortisol secretion during intensive, repeated exercise with too short a recovery time (547). In this study, we were not able to determine whether cyclists with high cortisol concentrations also had insufficient carbohydrate intake. Such a deficiency in carbohydrate supply may account, in part, for the increase in plasma cortisol concentration some time after exercise (548).*

*The pathological repercussions of this adaptive increase in cortisol concentration are unclear. Several studies (44, 360, 378, 379) have demonstrated an absence of change in urinary free cortisol concentration, circadian rhythm in cortisol production or adrenal response to pharmacological stimulation. Conversely, other studies (84, 384) reported*

hyperactivity of the HPA axis, but in sportswomen with amenorrhoea, who often have low BMI and fat masses (83). Thus, an additional energy deficit would clearly lead to an increase in plasma cortisol concentration (80) and an increase in cortisol production, as described in anorexic patients (375). We found that, although most of the elite endurance cyclists had high levels of energy expenditure and lower BMI than for other disciplines (table I), it was highly improbable that a deficit in calories could account for the high basal cortisol concentrations recorded. Indeed, cortisol concentrations were similar in amateur cyclists with lower levels of energy expenditure (table III). We also found a negative correlation between weight or BMI nor plasma cortisol concentration. Furthermore, the anthropometric data for the cyclists showed that none of the cyclists were severely malnourished. Finally, our results showed that plasma cortisol concentration was positively correlated with form, as previously reported by Hoogeveen et al. (381). In contrast to previous suggestions (549), we found that plasma cortisol concentration was not a good indicator of fatigue. The lack of change in form provides additional evidence for a lack of pathological effects (on the cardiorespiratory and/or muscle systems of these cyclists) of the increase in plasma cortisol concentration. Instead, this increase seems to reflect adaptation to intensive sporting activity. The decrease in tissue sensitivity to GC in sportsmen (44, 377) probably limits the deleterious effects of possible excess endogenous cortisol production in certain tissues. A decrease in the number and/or affinity of glucocorticoid receptors and variation in the activity of  $11\beta$  hydroxysteroid dehydrogenase, which modifies the metabolic clearance of cortisol, may be involved in this process (378, 550).

In this study, we determined total cortisol concentration. It is possible that some of the increases observed were linked to an increase in the plasma concentration of cortisol-binding globulin (CBG) (126). CBG concentration increases essentially in situations of excess oestrogen production, leading to an increase in hepatic CBG concentration (142). Indeed, 67 of the 81 samples from women with high cortisol concentrations were using combined oral contraception, justifying their exclusion from the analysis. Thus, in all cases of high plasma cortisol concentration in women, it is essential to first rule out the taking of oral contraceptives containing oestrogen. In male subjects, increases in CBG concentration may be linked to the misuse of selective oestrogen receptor modulators (143) to counteract the estrogenic effects of anabolic steroids, which can be transformed into aromatic compounds and converted into estrogens (551). Although this may be the case for certain individuals, this hypothesis could not realistically account for all the high concentrations recorded for male cyclists. The use of salivary cortisol determinations would have been preferable as such

determinations provide a more sensitive indication of plasma free cortisol concentration and can be used to assess possible changes in the plasma transport proteins. We were not able to use this technique for this large population because it has not yet been automated.

The increases in plasma cortisol concentration observed may be artificial, resulting from the stimulation of adrenal secretion by analogues of the adrenocorticotrophic hormone (ACTH) (159) or the recognition of other synthetic GCs by the anti-cortisol antibodies of the kit (126). The administration of ACTH before sampling may account for some of the very high values. ACTH administration is a logical step for cyclists who wish to prevent biological adrenal insufficiency, which is a contraindication for cycling. However, cross reactions may have occurred with prednisone, methylprednisolone or hydrocortisone administered for medical reasons, and would account for these high values provided that the drug concerned was administered just before sampling.

### **Effects of exogenous glucocorticoids**

In this study, 21% of cyclists declared having received GC treatment at least once during the 2003 season. No significant difference in cortisol concentration was observed between samples in the presence and absence of GC treatment. This lack of difference may be due to (i) underestimation of the frequency of treatment based on data from the self-completed questionnaire, (ii) the time between the last GC administration and the sample, which could extend to three months, at which point the GC would no longer be biologically active or (iii) the existence of inhibitory feedback control over GCs, which may be attenuated in highly trained cyclists (377). However, the CVI of GC-treated cyclists was higher than that of untreated cyclists, probably reflecting effects of corticosteroid treatment on intra-individual variation.

### **Seasonal variation**

Our results demonstrate seasonal variation in plasma cortisol concentration, with a difference of about 10% between high values (winter and spring) and low values (autumn) (table III). However, this pattern differs from the seasonal variation of plasma (550) and salivary (552) cortisol concentration observed in sedentary subjects, in which values were higher in autumn and winter than in spring and summer. Seasonal variations have also been observed in triathlon athletes competing at regional level, who were compared with a group of sedentary individuals, with no significant difference observed between the two groups (378). Thus, the decrease in plasma cortisol concentration in autumn (rest period) and the

*increase in this concentration in spring (period of activity) in our cyclists suggest that intensive cycling activity modulates cortisol secretion, notably by means of certain nutritional and doping practices.*

*Our analysis of intra-individual variability in plasma basal cortisol concentration provides information concerning the physiological or non-physiological nature of the difference between two samples. The total CVI of subjects not treated with GCs was 21%. Thus, all differences between consecutive samples exceeding the MSC (42%) or the LSC (58.6%) may be considered non-physiological. In our study, 86 (7.6%) and 193 (17.6%) pairs of samples from amateurs, using the LSC and MSC, respectively, were considered to display non-physiological differences. For professionals, 29 (9.8%) and 67 (22.6%) pairs of samples were considered to display non-physiological differences, based on the LSC and the MSC, respectively. In practice, these methods could be used to screen for abnormal increases (taking of ACTH or glucocorticoids cross reacting with the antibody used in the test) or decreases (inhibition of the HPA axis following corticosteroid administration) in plasma cortisol concentration, leading to further investigations.*

### **Conclusion**

*These determinations of plasma cortisol concentration in a population of elite cyclists exposed to multiple strains and, in some cases, doping, showed considerable dispersion. We found that about 20% of the plasma cortisol concentrations obtained for these elite cyclists were higher than the upper limit of the reference range of the kit, indicating that the response of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the basal state had been modified in these cyclists. A positive correlation between plasma cortisol concentration and the level and intensity of cycling activity seems to be a marker of this activity, but increases in this concentration are not linked to a clinical decrease in form. Based on our data, it is impossible to determine whether the high plasma cortisol concentrations observed reflect adaptive mechanisms or risky behaviour (dietary or iatrogenic). Similarly, we cannot assess pathological dysfunction of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. In any case, the discovery of high basal cortisol concentrations in a sportsman should lead to complementary investigations (cortical secretion over a 24-hour period, cortisol cycle, inhibition tests) to eliminate the possibility of tumour-related hypercorticism.*

*Low plasma basal cortisol concentration in an elite sportsman is a sign of biological adrenal insufficiency, probably induced by glucocorticoid treatment. Due to the risk of acute decompensation, low cortisol concentrations should lead to endocrinological investigation*

*and dynamic explorations of adrenal function (1 µg Synacthène test).*

***Acknowledgements***

*This study received financial support from the Ministère Français de la Jeunesse des Sports et de la Vie Associative, French professional cycling groups, INSERM Unit 515 and Université Pierre et Marie Curie Paris VI.*

*We would also like to thank the representatives of the French Cycling Federation, and of the Ligue Professionnelle du Cyclisme Français for their support of medical follow-up and the doctors of teams, professional sports groups and federations, who made this study possible.*

*We would particularly like to thank the cyclists who allowed us to analyse their medical follow-up data.*

*Table I: Principal characteristics of the elite cyclists, by category*

	Male professionals n = 99	Male amateurs n = 383	Female amateurs n = 67	Total n = 482	
	Endurance n = 99	Endurance n = 267	Resistance n = 49	Resistance + Endurance n=21+46	
Age (years)	27.0 (3.8) <sup>a,b</sup>	25.5 (4.7) <sup>c,d</sup>	23.3 (3.9) <sup>e</sup>	24.4 (6.1)	
Weight (kg)	69.1 (5.9) <sup>a,b</sup>	68.9 (5.8) <sup>c,d</sup>	78.4 (6.1) <sup>e</sup>	57.9 (6.6)	
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	21.5 (1.2) <sup>a,b</sup>	21.5 (1.2) <sup>c,d</sup>	24.5 (1.6) <sup>e</sup>	20.9 (1.9)	
Number of cyclists treated with GCs (% category)	33 (33.0) <sup>#</sup>	51 (19.5)	9 (18.4)	9 (13.6)	102 (21.2)

The data are expressed as means (standard deviation)

ANOVA demonstrated an effect of age ( $F = 27.9$ ;  $p < 0.001$ ), weight ( $F = 239$ ;  $p < 0.001$ ) and body mass index ( $F = 320$ ;  $p < 0.001$ )

a PE vs. AR  $p < 0.01$

b PE vs. AF  $p < 0.01$

c AE vs. AR  $p < 0.01$

d AE vs. AF  $p < 0.01$

e AR vs. AF  $p < 0.01$

#Chi<sup>2</sup> tests demonstrated an effect of category ( $\chi^2 = 10.8$ ;  $p < 0.001$ ) on glucocorticoid use PE > AF = AE = AR

Abbreviations:

PE: Professionals in endurance disciplines

AE: Amateurs in endurance disciplines

AR: Amateurs in resistance disciplines

AF: Amateurs, female (endurance and resistance)

GC: Glucocorticoids

*Table II: Characteristics of the samples*

	PE	AE	AR	AF	Total Cyclists
No. of cyclists subject to regulatory follow-up	171	374	62	76	683
No. of cyclists included in the study#	99	267	49	67	482
% Initial population	57.9%	71.4%	79.0%	88.2%	70.6%
Total no. of samples#	396	801	151*	201	1549
No. of samples included	396	801	151	95##	1443
Plasma cortisol concentration nmol/L					
Mean (standard error)	542 (7.56) <sup>a,b,c</sup>	489 (4.86)	478 (10.5)	467 (15.5)	515 (4.01)

# Only cyclists giving their mandatory samples at the same laboratory — three samples for amateurs and four for professionals — were included

## 106 samples were taken from 35 female cyclists taking oral contraception

\*4 cyclists gave an additional sample in winter

ANOVA showed an effect of category ( $F = 8.75, p < 0.001$ )

a PE vs. AE  $p < 0.001$

b PE vs. AR  $p < 0.001$

c PE vs. AF  $p < 0.001$

**Table III: Effect of category and season on plasma cortisol concentration**

	PE <sup>c,d,e</sup>	AE	AR	AF
No.	99	267	49	32**
Winter	585 (10.8) <sup>f</sup>	ND	ND	ND
Spring	536 (16.0) <sup>a</sup>	514 (8.5) <sup>a</sup>	484 (18.4)	505 (28.7) <sup>a</sup>
Summer	560 (17.7) <sup>b</sup>	503 (8.5) <sup>b</sup>	500 (16.8) <sup>b</sup>	480 (24.6) <sup>b</sup>
Autumn	487 (13.6)	450 (7.8)	457 (18.8)	418 (25.7)
CVI cortisol %	24.0 (2.0)	20.8 (0.8)	19.9 (1.6)	27.4 (2.0)

Values are expressed in nmol/L, as means (standard error of the mean, SEM); ND: not determined

\*\* 35 cyclists taking oral contraception were excluded

ANOVA showed an effect of season ( $F = 8.2$ ;  $p < 0.001$ ), an effect of category ( $F = 9.08$ ;  $p < 0.001$ ) but no interaction between season and category ( $p = 0.10$ ):

a spring vs. autumn  $P < 0.001$

b summer vs. autumn  $P < 0.001$

c PE vs. AE  $p < 0.001$

d PE vs. AR  $p < 0.001$

e PE vs. AF  $p < 0.001$

f For PE only, winter vs. autumn  $P < 0.01$

ANOVA showed no effect of category on the CVI of cortisol ( $F = 2.2$ ;  $p = 0.09$ , non-significant).

The CVI represents the mean seasonal intra-individual variation for each category.

**Table IV: Effects on plasma cortisol concentration (nmol/L) of cycling activity during the week immediately before blood sampling**

Total samples n = 1443	Mean (SEM) (nmol/L)
<b>Total rest n = 240</b>	<b>479 (10.0)<sup>a,b</sup></b>
<b>Unknown activity n = 156</b>	<b>528 (12.9)<sup>b</sup></b>
<b>Cycling activity n= 1047</b>	<b>516 (4.9)</b>
<b>Including</b>	
Competition = 729	514 (5.7)
Training only n = 245	519 (10.7)
Unknown n= 73	516 (21.5)

*ANOVA showed an effect of cycling activity on cortisol concentration ( $F=6.12$ ;  $p=0.002$ ), but no effect of the type of activity ( $F=0.08$ ;  $p=0.92$ )*

*a Rest vs. cycling activity  $p < 0.001$*

*b Rest vs. unknown activity  $P=0.001$ .*

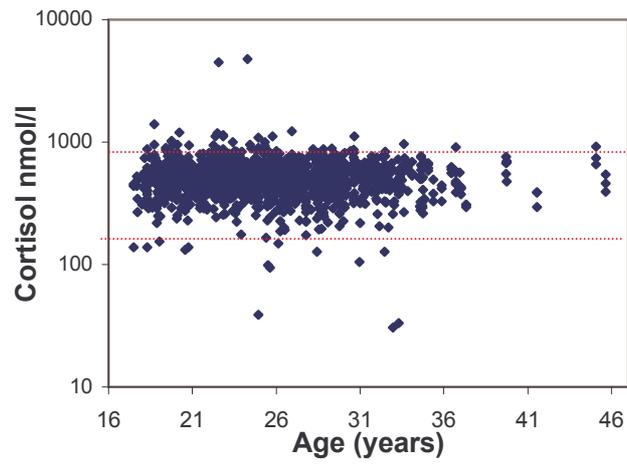
13 *Table V: Effects of corticosteroid treatment on plasma cortisol concentration*

	PE	AE	AR	AF#	Total samples
<b>Cyclists declaring treatment</b>					
No. of samples	97	84	11	7	199
Plasma cortisol concentration (nmol/L)	574 (45)	454 (15)	477 (34)	456 (27)	513 (23)
<b>Cyclists declaring no treatment</b>					
No. of samples	243	683	127	80	1133
Plasma cortisol concentration (nmol/L)	559 (19)	490 (5)	479 (12)	465 (16)	502 (6)
<b>Treatment status unknown</b>					
No. of samples	56	34	13	8	111
Plasma cortisol concentration (nmol/L)	558 (16)	561 (21)	441 (13)	495 (8)	545 (13)

*The results are expressed as means (standard error)*

*# Women taking oral contraception were excluded*

*ANOVA showed no effect of treatment when all samples were considered ( $F = 2.12$ ;  $p = 0.12$ ).*



**Figure 1: Plasma cortisol concentration by age (semi-logarithmic scale)**

The dotted lines indicate the limits of the range of reference values of the kit for a sedentary population (119 – 619 nmol/L).

**14 Article IV : Retentissement de la pratique du sport de haut niveau sur l'axe somatotrope et le remodelage osseux**

Les différentes études de la littérature ont montré que les variations des concentrations plasmatiques d'IGF1 et des protéines porteuses étaient contrastées. Ces différences sont probablement dues à l'hétérogénéité des sujets et des conditions des expériences (âge, statut nutritionnel, type d'entraînement).

L'objectif de ce travail était de décrire les concentrations plasmatiques d'IGF1 et des IGFBP chez des sportifs de haut niveau français et de les comparer en fonction de la discipline pratiquée, du sexe et du moment de la saison de compétition. Nous nous sommes focalisés sur les valeurs anormales d'IGF1 de façon à discuter les éléments qui pouvaient soit relever de la pathologie (dopage, restriction alimentaire) soit des adaptations provoquées par la pratique intensive du sport.

Par ailleurs, ce travail propose également une analyse de la variation intraindividuelle qui permet de distinguer à partir de quand la différence entre deux prélèvements devient pathologique.

## Introduction

L'hormone de croissance hypophysaire, hormone peptidique de 191 acides aminés sécrétée de façon pulsatile, possède des effets sur le métabolisme protidique (anabolisme), lipidique (lipolyse) et glucidique (hyperglycémie) (176). Elle stimule principalement la synthèse hépatique de l'IGF1, véritable facteur de croissance post-natal qui a, en plus des effets sur la croissance et la différenciation cellulaire, des actions anabolisantes protidiques, lipogénétiques et hypoglycémiantes (104). L'IGF1 circule dans le plasma lié à des protéines de liaison spécifiques (IGFBP), dont 80% sous la forme d'un complexe ternaire de 150 KDa associant l'acid-labil subunit (ALS), l'IGFBP3 et l'IGF1, la synthèse hépatique d'ALS et d'IGFBP3 étant également positivement régulée par la GH (104).

L'activité de l'axe somatotrope dépend principalement de l'âge, de l'équilibre nutritionnel et, à un moindre degré, du sexe (176) et de la composition corporelle (231). L'activité physique régule également l'activité de l'axe somatotrope puisqu'un effort musculaire entraîne une augmentation transitoire mais importante de la sécrétion de GH proportionnelle à son intensité (387), alors que les variations de la concentration plasmatique d'IGF1, d'ALS ou d'IGFBP3 sont faibles ou inconstantes. En effet, au cours d'un effort unique, intense et bref (inférieur à 30 minutes) réalisé chez des sujets très entraînés, certains auteurs ont mis en évidence une augmentation transitoire d'environ 15% des concentrations plasmatiques du complexe ternaire (103, 262), alors que d'autres (553) n'ont pas trouvé de variations. Pour des efforts prolongés continus ou intermittents, l'absence de variation voire une diminution de la concentration plasmatique d'IGF1 a été constatée (438, 440).

Alors que l'entraînement augmente les capacités cardiovasculaires, musculaires et la composition corporelle, la fonction somatotrope semble peu modifiée. D'une part, l'entraînement modifie peu ou pas la réponse sécrétoire de la GH à un effort musculaire est inchangée, quels que soient l'âge, le sexe ou les modalités de cet entraînement (422). D'autre part, la pratique régulière d'une activité physique ou sportive entraîne des effets contrastés sur la concentration plasmatique basale d'IGF1 et des IGFBP. Certains auteurs ont montré une augmentation (449, 457, 460, 467), d'autres l'absence de variation (51, 459) voire une diminution (461, 464, 468, 469). Ces différences peuvent s'expliquer par l'hétérogénéité des caractéristiques des sujets étudiés dans ces différentes études (âge, sexe, composition corporelle, statut nutritionnel) qui, indépendamment de la pratique de l'activité physique, peuvent modifier l'activité de l'axe somatotrope. De plus, l'intensité, le niveau et le type de la discipline sportive pratiquée sont également susceptibles de modifier les concentrations plasmatiques d'IGF1 et d'IGFBP. D'une part, la synthèse hépatique d'IGF1 étant très sensible

à l'équilibre énergétique (234), il est vraisemblable que le déficit énergétique provoqué par une dépense énergétique importante et non compensée comme dans les disciplines d'endurance (course à pied, cyclisme, ...) ou par une restriction calorique dans les sports à catégorie de poids (475) ou esthétique (382), (474) entraînera une diminution de la concentration plasmatique d'IGF1. D'autre part, les pratiques de dopage augmentant avec le niveau de compétition (554), il est vraisemblable que les sportifs de haut niveau qui utilisent des dérivés hormonaux (en particulier la GH et/ou des stéroïdes anabolisants), présentent également des modifications des concentrations plasmatiques d'IGF1 (103, 207).

Etant donné que le retentissement de la pratique du sport de haut niveau sur l'axe somatotrope a été peu étudié et que les résultats publiés sont hétérogènes, notre étude avait pour objectif de l'analyser au sein d'une population sportive française de haut niveau pratiquant des disciplines sportives différentes, et de comparer les valeurs obtenues à celles des sujets non pratiquants et des patients atteints d'une acromégalie. Il est apparu pertinent de dresser un état des lieux des concentrations plasmatiques basales d'IGF1 et de ses protéines porteuses.

Ce travail s'est également focalisé sur les valeurs anormales d'IGF1 de manière à individualiser les facteurs qui permettent d'expliquer ces valeurs chez le sportif. De plus, étant donné que ces paramètres sont susceptibles d'être utilisés pour dépister l'abus de GH (101-103, 105), nous avons également dosé les marqueurs du remodelage osseux ainsi que la variation saisonnière de certains de ces paramètres au cours d'une saison sportive pour mieux interpréter les valeurs sériques quelle que soit la période d'entraînement.

### **Sportifs, matériels et méthodes**

Les articles L 3611 et suivants du code de santé publique français obligent les sportifs de haut niveau (environ 6000) à un suivi médical pluriannuel dont trois prélèvements sanguins comprenant au minimum l'analyse des paramètres hématologiques et des réserves martiales. Le dosage de paramètres complémentaires (dosages hormonaux, marqueurs du remodelage osseux) peut être réalisé à l'initiative des fédérations sportives qui le désirent. Les objectifs de ce dispositif sont de protéger les sportifs de haut niveau de certains effets délétères de la pratique intensive du sport (surentraînement, troubles du comportement alimentaire) et de promouvoir la prévention et la réduction des risques du dopage. Deux cent soixante sept sportifs de haut niveau, majoritairement d'origine caucasienne (176 hommes, 91 femmes) et dont les caractéristiques sont données dans la table I, ont donné leur consentement pour que, lors du suivi médical pluriannuel, un échantillon de sang supplémentaire par rapport aux analyses initialement programmées, soit destiné à l'étude plus détaillée de l'axe somatotrope et du remodelage osseux. Ces sportifs étaient tous de niveau international et appartenaient à 5

fédérations sportives différentes (table I). La plupart des fédérations sportives organisant la pratique de plusieurs disciplines, nous avons regroupé les sportifs en 2 catégories selon la prédominance de la filière énergétique utilisée à l'entraînement et en compétition. Ainsi les rameurs (n = 29), les cyclistes pratiquant la route (n = 61), le VTT cross-country (n = 19) ou la poursuite (n = 4), et les skieurs de fond et les biathlètes (n = 14) ont été regroupés dans la catégorie « endurance » (E). Les cyclistes pratiquants la vitesse sur piste (n = 17), le BMX (n = 12) ou le VTT descente (n = 10), les judokas (n = 39), les rugbymen (n = 32) et les skieurs alpins (n = 30) ont été regroupés dans la catégorie « résistance » (R).

Les données de la table I montrent la spécificité des données anthropométriques en fonction de la discipline sportive pratiquée, avec un effet significatif de l'âge ( $p < 0.001$ ), du poids ( $p < 0.001$ ) et de l'IMC ( $p < 0.001$ ). Cette différence existait entre les sexes puisque l'indice de masse corporelle (IMC) et le poids chez les femmes étaient inférieurs à celui des hommes, respectivement  $21.6 \pm 2.3 \text{ kg/m}^2$  versus  $24.0 \pm 2.8 \text{ kg/m}^2$  ( $p < 0.0001$ ) et  $60.6 \pm 8.1 \text{ kg}$  versus  $79.6 \pm 13.0 \text{ kg}$  ( $p < 0.0001$ ). Les sportifs E avaient également un IMC et un poids inférieurs à ceux des athlètes R, respectivement  $21.5 \pm 1.9 \text{ kg/m}^2$  versus  $25.4 \pm 2.4 \text{ kg/m}^2$  ( $p < 0.0001$ ) et  $67.9 \pm 12.2 \text{ kg}$  versus  $80.8 \pm 14.4 \text{ kg}$  ( $p < 0.0001$ ).

Les sportives étaient discrètement plus jeunes que les sportifs  $23.8 \pm 4.0$  versus  $25.1 \pm 4.0$  ans ( $p < 0.01$ ), alors que l'âge des sportifs E et R ne différaient pas statistiquement ( $24.6 \pm 4.4$  versus  $24.7 \pm 3.7$  ans ( $p = 0.85$ )).

Un échantillon de sang était prélevé lors du suivi réglementaire dans une veine antécubitale au repos, le matin à jeun entre 7 heures 30 et 9 heures 30. Le sang était centrifugé, puis le sérum réparti en différents aliquots réfrigérés à  $-80^\circ\text{C}$ . Ils étaient ensuite transférés dans le même laboratoire pour être analysés.

Les résultats ont été comparés à ceux des témoins non-sportifs venus dans le laboratoire ainsi qu'à des patients atteints d'une acromégalie (n = 15).

Les données anthropométriques (poids, taille) étaient recueillies lors de l'examen clinique effectué par les médecins responsables du suivi de ces athlètes.

Pour analyser la variation saisonnière, 2 prélèvements au moins ont été réalisés chez 92 sportifs durant la même saison d'entraînement ou de compétition, au printemps et à l'été. 70 hommes et 22 femmes, 25 appartenant à la fédération des Sociétés française d'Aviron, 32 à celle de cyclisme et 35 à celle de ski. Les cyclistes étaient tous des professionnels masculins sur route tirés au sort parmi la totalité des prélèvements disponibles.

Analyses

Les prélèvements ont été stockés pour être analysés dans le laboratoire d'explorations fonctionnelles de l'hôpital Trousseau (Paris -France) pour GH, IGF1, IGF2, IGFBP2, IGFBP3, IGFBP6, ALS, Insuline et celui de l'hôpital Necker (Paris -France) pour ostéocalcine et  $\beta$ -CTX. Le dosage d'IGFBP1 n'a pas été effectué car notre étude avait plutôt pour objectif de mesurer les effets d'une restriction calorique chronique (234).

L'ensemble des paramètres n'a pas pu être dosé pour tous les sportifs en raison de l'insuffisance de quantité de sérum aliquote. Le dosage de l'IGF1, de l'IGFBP3, de la GH de l'ostéocalcine et de  $\beta$ -CTX a été effectué en priorité. Ces différences de nombre sont présentées dans les tables IV, V et VIII.

La concentration plasmatique de GH était dosée par immunoradiométrie (IRMA) (Immunotech SAS – Marseille - France). La limite de détection du dosage était de 0.3  $\mu$ g/L. Le coefficient de variation (CV) intra-séries était de 0.7, 1.5 et 1.3% à 7.3, 13.6 et 56.0 mUI/L et le CV inter-séries de 13.4, 14.0 et 13.1% à 6.5, 12.1 et 51.4 mUI/L. Il n'y avait pas de réaction croisée avec la prolactine, l'HCG et la GH placentaire.

La concentration plasmatique d'IGF1 était dosée par IRMA après séparation des IGFBP par l'éthanol (Immunotech SAS – Marseille - France). Le CV intra-séries était de 5.92 % et 4.07 % à 267 et 352  $\mu$ g/L et le CV inter-séries de 5.1%.

La concentration plasmatique d'IGF2 était dosée par IRMA après extraction par éthanol (Diagnostic System Laboratory Inc, Webster, Texas, USA ). Le CV intra-séries était de 4.3, 7.2 et 4.3% à 63, 416 et 1585  $\mu$ g/L et le CV inter-séries de 9.5, 6.3 et 10.4% à 74, 427 et 1295  $\mu$ g/L. Il n'y avait pas de réaction croisée avec l'IGF1, l'insuline ou la pro-insuline.

La concentration plasmatique d'IGFBP3 était dosée par RIA (Diagnostic System Laboratory Inc, Webster – Texas, USA). La limite de détection du dosage est de 0.25 mg/L. Le CV intra-séries était de 8.0, 3.4 et 3.8% à 0.56, 1.72 et 3.08 mg/L et le CV inter-séries de 5.3 et 6.3% à 0.6 et 1.69 mg/L. Il n'y avait pas de réaction croisée avec l'IGFBP1, IGFBP2, IGF1 ou IGF2.

La concentration plasmatique d'IGFBP2 était dosée par RIA (Diagnostic System Laboratory Inc, Webster – Texas, USA). La limite de détection était de 0.5  $\mu$ g/L. Le CV intra-séries était de 8.5, 6.2, 4;7% à 13, 32 et 94  $\mu$ g/L et de 7.4, 4.5 et le CV inter-séries de 7.2% à 3, 13 et 70  $\mu$ g/L. Il n'y avait pas de réaction croisée avec les autres IGFBP.

La concentration plasmatique d'IGFBP6 était dosée par RIA (Diagnostic System Laboratory Inc, Webster – Texas, USA). La limite de détection était de 1.1  $\mu$ g/L. Le CV intra-séries était de 6.4, 8.6, 10;7% à 9, 26 et 49  $\mu$ g/L et le CV inter-séries de 8.1, 9.5 et 6.1% à 6, 20 et 36  $\mu$ g/L. Il n'y avait pas de réaction croisée avec les autres IGFBP.

La concentration plasmatique d'ALS était dosée par technique immunoenzymatique (ELISA) (Diagnostic System Laboratory Inc, Webster – Texas, USA). La limite de détection du dosage est de 0.07 mg/L. Le CV intra-séries était de 6.1, 7.5 et 3.8% à 1.65, 7.72 et 29.2 mg/L et le CV inter-séries de 8.6, 2.8 et 8.9% à 2.22, 7.9 et 30.1 mg/L. Il n'y avait pas de réactions croisées avec IGF1, IGF2, ou les IGFBP.

La concentration plasmatique d'insuline était dosée par IRMA (Sanofi Diagnostic Pasteur – Marnes la Coquette - France). La limite de détection du dosage était de 0.2 UI/L. Le CV intra-séries était de 3.7, 3.3 et 2.4% à 6.2, 20.9 et 49.7 UI/L et le CV inter-séries de 9.3, 7.9 et 5.2% à 4.2, 15.8 et 52 UI/L. Il n'y avait pas de réaction croisée avec IGF1, IGF2 ou la pro-insuline.

La concentration plasmatique d'ostéocalcine était dosée par immunoradiométrie reconnaissant l'ostéocalcine intact et le fragment 1-43 (Elsa-CT. Cis bio international. Gif sur Yvette, France). La limite de détection était de 2 ng/ml. Le CV intra-séries était de 2.8 % et 5.2% à 29.6 ng/ml et 54 ng/ml et le CV inter-séries de 1.2% et 3.6 % à 22 et à 45ng/ml.

La concentration plasmatique de l'isomère  $\beta$  du télopeptide C-terminal du collagène de type I ( $\beta$ -CTX) était dosée par technique immunoenzymatique (Serum CrossLaps One Step Elisa, Nordik Biosciences - Danemark). La limite de détection du dosage était de 300 pmol/ml. Le CV intra-séries et inter-séries étaient inférieurs à 10%. Les valeurs de références variaient en fonction de l'âge et du sexe.

Analyse de la variation intraindividuelle

Pour chaque sportif et pour chaque paramètre pour lequel 2 prélèvements était disponibles, le coefficient de variation intra-individuel (CVI) saisonnier a été calculé selon la formule suivante :

$$CVI = \text{Ecart type} / \text{moyenne}$$

La variation intraindividuelle de l'ensemble de la population est représenté par la moyenne des CVI individuels (314).

Nous avons également déterminé (avec un intervalle de confiance de 95%) le pourcentage à partir duquel la différence entre 2 prélèvements pouvait être considérée comme non physiologique à l'aide du « least significant change (LSC) » (314)

$$LSC = 1,96 \times \sqrt{2} \times \text{racine} \sqrt{(CVa^2 + CVI^2)} \text{ (Cf. méthode § 11.3)}$$

Les résultats sont donnés dans la table VIII.

### **Analyses statistiques**

Les résultats sont donnés en moyenne +/- DS.

Nous avons utilisé le logiciel SPSS pour Windows version 12 (SPSS, Chicago Inc, USA). La distribution normale des variables a été vérifiée. Nous avons réalisé un test d'analyse de la

variance à un facteur ou de Student pour comparer les moyennes d'échantillons indépendants après transformation logarithmique pour normaliser les variables (IGF1, IGFBP2, IGFBP6, ALS, GH, insuline, ostéocalcine,  $\beta$ -CTX) qui ne suivaient pas une loi normale.

Les coefficients de corrélation (Pearson) entre les variables ont été analysés après contrôle de l'âge. L'hypothèse nulle était rejetée pour une valeur de  $p$  inférieure à 5% ( $p < 0.05$ ).

De manière à pouvoir comparer les valeurs des sportifs qui se situaient dans des tranches d'âge différentes, les valeurs ont été exprimées en DS et en Z score si la variable était influencée par l'âge. Le Z score se calculait en fonction de la moyenne et de l'écart type de la population témoin selon la tranche d'âge considérée.

## Résultats

### Influence de l'âge et du sexe sur les paramètres

Comme cela est montré dans la table II, les concentrations plasmatiques d'IGF1, IGFBP3, IGF2, insuline,  $\beta$ -CTX et ostéocalcine diminuaient avec l'âge, mais pas IGFBP6 ni GH. Les corrélations partielles montraient une relation positive l'indice de masse corporelle et l'IGF1, IGFBP6, l'insuline, les marqueurs du remodelage osseux. Cette relation était négative avec la IGFBP3 et GH. L'IGF1 était positivement mais faiblement corrélé à IGFBP3, insuline et IGFBP6. L'ostéocalcine et le  $\beta$ -CTX étaient fortement corrélés.

Les données comparant les paramètres de l'axe somatotrope et du remodelage osseux sont présentées dans la table IV. Les valeurs d'IGF1, IGFBP3, d'ALS, de GH et insuline étaient significativement supérieures chez les sportives. Inversement, les valeurs d'IGFBP2, de  $\beta$ -CTX et d'ostéocalcine étaient inférieures à celles des sportifs.

### Influence de la discipline sportive

Comme cela est montré dans le table V, les concentrations plasmatiques d'IGF1, d'insuline, de  $\beta$ -CTX et d'ostéocalcine étaient inférieures pour les sportifs d'E. La concentration plasmatique d'IGFBP2, d'IGFBP3 était supérieure chez les E. Les autres paramètres (IGF2, IGFBP6, GH) ne différaient pas significativement. Il n'y avait pas de différence dans la répartition hommes/femmes dans chaque catégorie ( $p = 0.52$ ).

### Répartition des valeurs :

La table VI montre qu'il existe une dispersion des valeurs des sportifs plus importante que celle qu'on attendait au sein d'une population non sportive. En effet, le pourcentage des valeurs comprises entre  $\pm 2$  DS se situe entre 57 et 78%, alors qu'on attendait, par définition, des chiffres proches de 95%. Le nombre de valeurs anormalement basses ( $< -2DS$ ) prédominait pour IGF1, IGFBP2, IGFBP6 et ostéocalcine, celui des valeurs anormalement hautes pour IGFBP3 et ALS et  $\beta$ -CTX.

### **Evolution des paramètres (table VII et VIII)**

Les données de la table VII montrent que, globalement, les valeurs obtenues durant la saison sont stables sur l'ensemble de la population sportive. Seules les valeurs d'insuline sont plus basses durant l'été et celles d'IGFBP3 ont tendance à diminuer durant l'été.

Au contraire, les CVI que nous avons calculés suggèrent que de nombreux sportifs présentent des variations importantes de ces paramètres en quelques semaines (table VIII), notamment pour des paramètres comme la GH, IGFBP2, IGFBP6, GH. IGFBP3 semblant le paramètre qui fluctue le moins

La variation intraindividuelle n'était pas influencée par le sexe puisque les CVI de l'IGF1, l'IGFBP2, l'IGFBP3, l'IGFBP6, l'ALS, l'ostéocalcine et du CTX étaient identiques dans les 2 sexes. Seul le CVI de la GH ( $p = 0.007$ ) était supérieur chez les féminines.

Par contre, la variabilité intraindividuelle était supérieure chez les sportifs E pour l'ostéocalcine ( $p = 0.04$ ) et tendait à être supérieure pour l'insuline ( $p = 0.14$ ) et le CTX ( $p = 0.16$ ). elle n'était pas différente pour les autres paramètres.

### **Discussion**

Nous avons comparé les variations des concentrations plasmatiques des marqueurs de l'axe somatotrope et du remodelage osseux au cours du suivi médical réglementaire imposé aux sportifs de haut niveau français. Contrairement à Healy et al. (101), ces dosages ont été effectués à distance d'un effort et d'une compétition mais pendant une période intensive d'entraînement.

#### **Axe somatotrope :**

Les résultats ont montré, comme pour les études précédentes effectuées chez les sportifs de haut niveau (101, 102), que les principaux facteurs qui font varier l'IGF1 et d'IGFBP3 sont l'âge et le sexe comme dans une population non sportive. Cependant, la dispersion des valeurs chez les sportifs est supérieure à celle qui était attendue au sein d'une population non sportive pour la plupart des paramètres mesurés. Ces résultats témoignent de la difficulté à établir des normes chez le sportif de haut niveau quel que soit le paramètre considéré. En effet, en plus de l'influence éventuelle de la pratique sportive (effort musculaire, effets de la période d'entraînement, de la période de compétition), les facteurs nutritionnels ou pharmacologiques (dopage), qui peuvent également modifier le fonctionnement des axes hormonaux, sont difficilement contrôlables dans cette population.

Les résultats de notre étude montrent qu'il existe une influence de la pratique sportive intensive sur la sécrétion basale d'IGF1 puisque 4.9 % et 16.9 % des concentrations

plasmatiques d'IGF1 étaient respectivement supérieures et inférieures aux valeurs de référence.

Les valeurs basses d'IGF1 ( $<-2DS$ ) observées chez 16.9% des sportifs de haut niveau pourraient s'expliquer par des mécanismes d'inhibition de la synthèse hépatique d'IGF1 et/ou de la sécrétion hypophysaire de GH.

Au niveau hépatique, il pourrait s'agir de la régulation négative de l'expression du GHR ou de sa signalisation induite par une restriction calorique globale ou sélective (234), par la production de cytokines (236) (notamment IL6) lors de la répétition d'efforts musculaires intenses (370, 372) ou de syndromes inflammatoires (555) survenant à la suite de détersion de lésions musculaires, d'hématomes ou post infectieux mais aussi de causes pharmacologiques (éventuellement de dopage).

Les facteurs nutritionnels représentent vraisemblablement la cause principale. En effet, les sportifs E ont des valeurs d'IGF1 inférieures à celles des sportifs de R à l'inverse de ce qui a été constaté par d'autres auteurs (101). Or, ces sportifs se différencient des sportifs R, non seulement par une plus grande minceur, mais également par des durées et des intensités d'effort plus grandes. Un déficit énergétique chronique, qualitatif ou quantitatif, pourrait, en partie, expliquer que la concentration plasmatique d'IGF1 soit plus basse dans les disciplines d'E (80), d'une part parce que la dépense énergétique est plus élevée chez les sportifs d'E et, d'autre part, parce que ces sportifs ont plus fréquemment des conduites alimentaires restrictives (9, 10). Cette hypothèse est renforcée par le fait que l'insulinémie est plus basse et que l'IGFBP2 est plus élevée chez les sportifs d'E. L'influence de l'âge et du sexe semblait peu probable puisque les sportifs de ces 2 catégories étaient comparables pour ces variables. A l'inverse, l'augmentation de la concentration plasmatique d'IGFBP3 chez les sportifs d'E est surprenante car elle est normalement diminuée dans les carences nutritionnelles (234). Cette discordance peut être expliquée par le fait que l'IGF1 et l'IGFBP3 ont des clairances métaboliques différentes ou que l'activité d'endurance exerce un effet propre sur la synthèse d'IGFBP3 qui reste à déterminer.

Le rôle des facteurs inflammatoires semble peu probable puisque le dosage de la C réactive protéine n'a pas mis en évidence de syndrome inflammatoire chez ces sportifs (données non montrées). Enfin, certains facteurs pharmacologiques peuvent également diminuer la concentration plasmatique d'IGF1 en modifiant, en particulier, la signalisation des GHR. C'est le cas de la contraception orale à base d'œstrogènes ou d'inhibiteurs sélectifs des récepteurs aux œstrogènes (208) utilisés pour diminuer les effets œstrogéniques d'un dopage

aux stéroïdes anabolisants (551). A l'exception des contraceptifs oraux, bien sur, nous n'avons pas pu obtenir de renseignements sur l'utilisation éventuelle de produits dopants.

La diminution de la sécrétion hypophysaire de la GH pourrait également être responsable d'une baisse de la concentration plasmatique d'IGF1, soit dans le cadre d'un surentraînement comme l'ont mis en évidence Barron et al. (81), soit par augmentation du tonus somatostatinergique provoquée par l'administration de médicaments comme les  $\beta$  2 agonistes utilisés dans le traitement de l'asthme d'effort (176).

Nos résultats ont montré que 16 sportifs (4.6%) avaient une élévation d'IGF1 ( $> +2$  DS) de, soit environ 2 fois supérieur à ce qu'on aurait pu observer dans une population non sportive. Après avoir écarté l'hypothèse d'une acromégalie, certains de ces sportifs étaient évidemment suspects d'avoir utilisé de la GH exogène, 4 sportifs d'entre eux avaient également un taux élevé d'IGFBP3 et 1 une élévation de l'IGFBP3 et d'ALS supérieur aux valeurs de référence était élevé. Cependant d'autres causes peuvent être discutées. D'abord, les effets de l'entraînement sur l'augmentation de la concentration basale d'IGF1 restent possibles mais discutés. En effet, bien que certaines études aient montré un effet modéré (449, 457, 460, 467), d'autres n'ont pas montré de variation voire une diminution de la concentration plasmatique d'IGF1 (440, 444, 463, 468, 474, 475). Deuxièmement, 4 des sportifs de notre étude qui avaient une concentration plasmatique d'IGF1 élevée étaient âgés de moins de 20 ans. Healy et al. (101) ont également constaté une fréquence importante d'IGF1 élevés chez les sportifs de cette tranche d'âge, mais les dosages contrairement aux nôtres, avaient été effectués après une compétition qui peut être responsable de cette augmentation comme l'ont montré d'autres auteurs (103, 260, 262). Il est possible que les effets combinés de l'activité sportive et d'une puberté encore proche explique cette augmentation. Enfin, certains de ces sportifs ont pu avoir recours à d'autres produits dopants que la GH, susceptibles d'augmenter la sécrétion de GH. En effet, l'administration de peptides sécrétagogues de la GH et celle de stéroïdes anabolisants (surtout à base d'esters de testostérone) s'associent à une augmentation de la concentration plasmatique d'IGF1 de manière dose dépendante chez l'adulte non déficitaire (206, 207, 556).

### **Marqueurs du remodelage osseux**

Nos résultats confirment que, comme chez les sujets non sportifs, l'âge et le sexe sont également les principaux facteurs de variations des marqueurs du remodelage osseux. En effet, comme cela a été montré par d'autres auteurs (304, 305), les concentrations plasmatiques des marqueurs du remodelage osseux diminuent rapidement durant la troisième et la quatrième décennie. A l'inverse des concentrations plasmatiques d'IGF1 et d'IGFBP3,

celle des marqueurs du remodelage osseux sont supérieurs chez les sujets masculins comme précédemment décrit (278, 302). Le couplage du remodelage osseux était également préservé puisque nous avons trouvé une forte corrélation positive entre le  $\beta$ -CTX (marqueur de résorption) et l'ostéocalcine (marqueur d'ostéof ormation).

Comme l'ont montré Woitge et al. (489), les sportifs pratiquant une discipline E avaient des concentrations d'ostéocalcine et de  $\beta$ -CTX inférieures à celles des sportifs R. Dans notre étude, cette tendance était probablement accentuée par le nombre important de cyclistes dans la catégorie E, ces sportifs ayant des valeurs significativement inférieures à celles des autres disciplines (table V). Plusieurs raisons pourraient expliquer ces différences. En effet, le cyclisme étant un sport porté, il pourrait en résulter une diminution de la stimulation du remodelage osseux (17, 496). Le bas remodelage osseux constaté chez les sportifs d'E pourrait également refléter un déficit énergétique (en raison d'apports caloriques inappropriés ou dans le contexte d'une stratégie de réduction pondérale), comme cela a été suggéré par plusieurs auteurs (307, 504). Enfin, Les glucocorticoïdes qu'ils soient ou non utilisés de manière licite, entraînent également une diminution des marqueurs de l'ostéof ormation (557).

#### **Etude de la variation saisonnière**

Les valeurs des différents paramètres dans l'ensemble de la population que nous avons étudiée, si on excepte l'insuline, étaient stables durant la saison de compétition (table VI). Ces données confirment celles de la littérature qui ont montré que l'entraînement n'entraînait pas des variations ou des variations de faible amplitude ( $< \pm 25\%$ ) des paramètres de l'axe somatotrope, notamment pour l'IGF1, ALS et IGFBP3 (442, 459, 464, 474). Seules 2 études ont montré une variation importante (+72%) de la concentration plasmatique d'IGF1 chez des sportifs de haut niveau dont les aspects pharmacologiques ne sont pas contrôlés (457, 467).

Inversement, nous avons observé une variation intraindividuelle élevée notamment pour la GH, l'ALS, IGFBP2 et IGFBP6. Cet aspect a été peu étudié chez les sujets adultes jeunes. Seuls Fink et al. (558) ont analysé les CVI de l'IGF1, de l'ostéocalcine et du  $\beta$ -CTX chez des femmes jeunes non ménopausées et ont trouvé respectivement 9.1%, 7.2% et 20.6%. Ces valeurs sont inférieures à celles que nous avons observées (16.8%, 16.7% et 16.1%) sauf pour le  $\beta$ -CTX. Ceci semble confirmer ce qui a été discuté plus haut, à savoir qu'il existe en plus des conditions analytiques, plusieurs facteurs qui sont susceptibles de faire varier les paramètres de l'axe somatotrope et du remodelage osseux chez le sportif de haut niveau.

Ainsi, le suivi des variations individuelles semble particulièrement pertinent et complémentaire de l'approche qui consiste à situer un paramètre par rapport à des valeurs de

référence. Il donne la possibilité de repérer les variations qui paraissent trop élevées dans leur amplitude comme cela est montré dans la table VIII. De ce point de vue, IGFBP3, IGF1 et les marqueurs du remodelage osseux qui ont les CVI les plus faibles, paraissent les paramètres les mieux adaptés.

### **Conclusion**

Notre étude a montré que la plupart des valeurs de l'axe somatotrope et du remodelage osseux se situent dans des zones physiologiques. Elles varient en fonction des caractéristiques individuelles comme chez le sujet non-sportif, c'est-à-dire l'âge et le sexe. Cependant, un pourcentage important de sportifs présentaient des valeurs d'IGF1 qui sortaient des valeurs de référence, notamment pour les valeurs basses plus fréquemment observées chez les endurants. L'évaluation de l'axe somatotrope est donc pertinente dans le suivi médical des sportifs de haut niveau, ces sujets étant particulièrement exposés à des risques qui peuvent menacer leur santé (déficit nutritionnel, surentraînement et dopage).

Ainsi, la diminution de la concentration plasmatique d'IGF1 chez le sportif peut être expliquée par la survenue d'un éventuel syndrome inflammatoire provoquée par une infection intercurrente ou la résorption d'un hématome. Le rôle de la pratique intensive du sport reste à démontrer.

L'utilisation d'une combinaison de paramètres de l'axe somatotrope et du remodelage osseux pour dépister l'abus de GH nécessite certaines précautions. L'analyse de la variabilité intraindividuelle est complémentaire car elle permet de repérer les variations qui, chez un même sportif, ne sont pas physiologiques. Sa mise en place nécessite cependant l'utilisation des mêmes automates et kits de dosage pour que les dosages soient comparables dans le temps. Ainsi pourrait-on établir un véritable « passeport biologique » du sportif comme l'ont suggéré certains auteurs pour dépister l'abus d'érythropoïétine (97). Par ailleurs, le choix du moment du prélèvement nous paraît également important, puisque les concentrations plasmatiques de la plupart de ces paramètres sont augmentées transitoirement par l'effort, bien que dans des proportions modérées.

## Tables & figures

**Table I: Characteristics of elite athletes**

	Number	Gender		Category		Age		BMI Kg/m <sup>2</sup>		Weight Kg	
		M/F	E/R	Year		M	F	M	F		
Acromegaly	15	8/7		51.0 (13.6)		ND		ND		ND	
Cyclism	123	76/47	84/39	23.5 (4.5)	a,b,c,d	22.5 (2.2)	a,b,c,d	21.3 (2.1)	b,d	72.4 (8.8)	a,b,c,d
Rugby	32	32/0	0/32	25.8 (2.8)		27.3 (1.8)	e,f			94.5 (12.5)	e,f,g
Skiing	44	24/20	14/30	25.5 (3.2)		25.3 (2.1)	h	22.4 (2.5)	h,i	80.7 (9.4)	h,i
Judo	39	20/19	0/39	25.7 (3.6)		26.4 (3.0)	j	24.6 (5.5)	j	84.4 (17.4)	
Rowing	29	24/5	29/0	25.8 (3.9)		23.4 (1.7)		21.8 (1.7)		83.8 (9.8)	
Total of athletes	267	176/91	127/140	24.7 (4.0)		24.3 (2.9)		22.2 (3.5)		80.2 (13.6)	

Values are given as mean (standard deviation)

M Male, F female, E endurance, R resistance

a Cyclism vs. Rugby  $p < 0.05$

b Cyclism vs. Skiing  $p < 0.05$

c Cyclism vs. Rowing  $p < 0.05$

d Cyclism vs. Judo  $p < 0.05$

e Rugby vs. p Skiing  $p < 0.05$

f Rugby vs. Rowing  $p < 0.05$

g Rugby Vs. Judo  $p < 0.05$

h Skiing vs. Rowing  $p < 0.05$

i Skiing vs. Judo  $p < 0.05$

j Judo vs. Rowing  $p < 0.05$

*Table II : Correlation between aging and variables of somatotrope axis when controlled for type of sport in athletes*

Variable	Pearson's coefficient
Weight	0,12
BMI	0,09
IGF1	-0,39 ***
IGFBP3	-0,32 ***
IGFBP2	0,12
IGF II	-0,24 *
ALS	-0,16
Insuline	-0,22 **
CTX	-0,24 ***
Ostéocalcine	-0,21 ***
IGFBP6	
GH	

\* p < 0.05, \*\* p < 0.01, \*\*\* p < 0.001

**Table III: Partial correlation between variables of somatotrope axis when controlled for aging in athletes**

	Log [IGF1] ng/ml	Log [IGFBP3] mg/ml	Log [IGFBP2] ng/ml	IGF II ng/ml	Log [ALS] mg/ml	Log [insulin] ng/ml	Log [CTX] pmol/ml	Log [Oc] ng/ml	Log [IGFBP6] ng/ml	Log [GH] ng/ml
Weight n = 216	0,06	-0,22**	0,25* *	0,03	0,03	0,12	0,42***	0,43***	0,19 *	-0,46**
BMI n = 216	0,14 *	-0,18 **	-0,01	0,02	0,03	0,24***	0,36***	0,32***	0,19*	-0,32**
IGF1 n = 267		0,26 ***	-0,12	0,20	0,00	0,22**	0,01	0,12	0,21 *	-0,02
IGFBP3 n = 258			-0,09	0,19	0,08	0,12	-0,04	-0,06	-0,160	0,03
IGFBP2 n = 124				0,04	0,08	-0,30***	0,20 *	0,36***	0,110	- 0,24**
IGF II n = 75					0,21	0,03	-0,08	0,10	0,160	-0,00
ALS n = 117						-0,15	-0,25**	-0,08	0,37 ***	0,04
Insulin n = 208							0,27***	0,17*	-0,040	-0,05
CTX n = 220								0,676** *	-0,18 *	- 0,31***
Oc n = 258									0,01	- 0,33***
IGFBP6 n = 121										- 0,33***
GH n = 169										

Pearson's coefficient: \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$   
Oc: Osteocalcin

**Table IV: Influence of gender on somatotrope axis and bone remodelling**

	Males n = 176		Female n = 91		Men's reference values#	Women's reference values#
	N		N			
IGF I (ng/ml)	176	280 (96)**	91	328 (131)	320 (60)	320 (60)
IGFBP3 mg/ml	176	4,67 (1,11)***	90	5,31 (1,08)	4,5 (0,5)	4,5 (0,5)
IGFBP2 ng/ml	95	373(192)***	36	248 (178)	470 (130)	470 (130)
IGF II ng/ml	61	949 (144)	20	931 (175)		
IGFBP6 ng/ml	92	167 (103)	36	138 (100)	175 (47)	175 (47)
ALS mg/ml	94	31,5 (24,2)	30	43,6 (61,5)	23,2 (5,2)	23,2 (5,2)
GH ng/ml	124	1,18 (3,05)***	53	5,27 (5,62)		
Insulin mUI/ml	149	3,79(2,59)	66	4,28 (2,75)		
CTX nmol/ml	156	5,52 (2,71)***	71	3,79 (1,91)	3.07 (1,22)	2.82 (0,94)
Ostéocalcine ng/ml	176	25,8 (9,5)***	90	20,3 (8,0)	34,0 (6,0)	28,0 (5,0)

Values are expressed mean (SD)

N number of sample analysed

Male vs. female \*\* p < 0.001, \*\*\* p < 0.001

# For controls aged between 21 and 30 years

*Table V: Influence of category on somatotrope axis*

	Endurance		Résistance	
	N		N	
IGF I (ng/ml)	127	281 (131)*	140	310 (87.6)
IGFBP3 mg/ml	126	5.09 (1.18)*	140	4.7 (1.08)
IGFBP2 ng/ml	57	386 (234)*	74	302 (153)
IGF II ng/ml	31	960 (161)	50	935 (145)
IGFBP6 ng/ml	57	138 (89)	71	175 (110)
ALS mg/ml	56	35.9 (35.8)	68	33.2 (38.0)
GH ng/ml	67	2.30 (4.22)	110	2.47 (4.52)
Insulin mUI/ml	118	3.09 (1.89)***	97	4.97 (3.04)
CTX mmol/L	126	4.38 (2.41)***	101	5.72 (2.67)
Osteocalcin ng/ml	126	22.0 (9.8)**	140	25.8 (8.6)

Endurance vs. resistance : \* p< 0.01, \*\* p<0.001, \*\*\* p< 0.0001

*Table VI: Repartition of values in sportsmen and sportswomen*

	% values < -2 DS	% values > 2 DS	% values in reference range
IGF I	16,9%	4,9%	78,2%
IGFBP3	6,2%	17,5%	76,3%
IGFBP2	26,7%	6,2%	67,1%
IGF II			
IGFBP6	32,3%	10,1%	57,6%
ALS	7,8%	24,9%	67,3%
GH			
Insulin			
CTX	10,6%	15,3%	74,1%
Osteocalcin	38,2%	4,0%	57,8%

*Table VII: Evolution of parameters during a training or competition season*

	Spring	Summer	Difference	p
IGF1 ng/ml n = 176	273 (8)	277 (9)	1,4%	0,74
IGFBP3 µg/ml n= 112	5,04 (0,82)	4,76 (0,60)	-5,9%	0,09
IGFBP2 ng/ml n=79	346 (28)	396 (42)	12,6%	0,31
ALS mg/ml n = 96	20,7 (1,3)	24,3 (1,6)	14,8%	0,08
Insulin mUI/ml n = 111	4,62 (0,33)	3,30 (0,22)	-40,0%	0,001
CTX mg/ml n = 119	6550 (320)	6400 (330)	-2,3%	0,76
Osteocalcin ng/ml n = 184	23,9 (1,0)	23,4 (1,0)	-2,1%	0,69
IGFBP6 ng/ml n = 79	102 (14)	100 (12)	-2,0%	0,93
GH ng/ml n = 111	2,49 (0,32)	2,16 (0,56)	-15,3%	0,69

**Table VIII: Different intraindividual coefficients of variation of somatotrope axis and bone remodelling**

	<b>ICV (SEM) %</b>	<b>LSC (CI 95%)</b>
<b>IGF1</b> <b>n = 84</b>	16,8 (1,3)	48,7
<b>OC</b> <b>n = 92</b>	16,7 (1,4)	46,8
<b>IGFBP3</b> <b>n = 52</b>	9,2 (1,1)	30,1
<b>IGFBP2</b> <b>n = 25</b>	27,5 (4,5)	78,9
<b>IGFBP6</b> <b>n = 25</b>	44,2 (7,3)	124,4
<b>ALS</b> <b>n = 41</b>	37,2 (5,2)	104,8
<b>GH</b> <b>n = 51</b>	40,1 (6,3)	117,3
<b>Insulin</b> <b>n = 51</b>	35,2 (3,2)	99,7
<b>CTX</b> <b>n = 59</b>	16,1 (1,9)	49,2

*OC : Osteocalcin*

**15 Article V : Effets de la pratique du cyclisme de haut niveau sur la densité minérale osseuse l'axe somatotrope et le remodelage osseux**

Les liens entre déficit gonadotrope, troubles du comportement alimentaire restrictifs et diminution de la densité minérale osseuse chez la sportive d'endurance sont bien individualisés dans la littérature.

Des travaux récents ont confirmé que l'insuffisance gonadotrope qui était associée à la pratique intensive du sport trouvait son origine dans le déficit calorique, qu'il soit ou non provoqué par un trouble restrictif du comportement alimentaire.

Etant donné l'axe somatotrope contrôle également la masse osseuse et que son fonctionnement dépend de l'équilibre énergétique, le travail suivant est focalisé sur les relations qui existent entre la DMO, les concentrations plasmatiques d'IGF1 et du remodelage osseux chez des cyclistes féminines de haut niveau pratiquant des disciplines différentes. De plus, il a permis de vérifier l'influence de la contraception orale sur ces paramètres.

## Introduction

Le contenu minéral osseux résulte de la différence entre le pic de masse osseuse (acquis à la fin de l'adolescence) et la perte osseuse durant la vie adulte. L'importance de son acquisition ou l'accélération de sa diminution durant la vie adulte sont influencées par un déterminisme génétique (559), par l'altération des fonctions hormonales, par certains déséquilibres nutritionnels ou le contact prolongé avec certains toxiques ou médicaments (282). L'activité physique y joue également un rôle important puisque la plupart des études effectuées ont montré un accroissement du pic de masse osseuse ou de la densité minérale osseuse chez des adolescents ou des adultes jeunes qui pratiquaient une activité physique ou sportive de façon régulière ou intensive [revue in (293)]. Les adaptations cellulaires du tissu osseux en réponse aux contraintes provoquées par l'activité physique sur le squelette s'effectuent essentiellement par l'intermédiaire de la transduction locale de signaux mécaniques en signaux biologiques (299). Ainsi, le gain de masse osseuse se limite aux pièces osseuses sollicitées par l'activité sportive, puisque la densité minérale osseuse est plus importante sur les membres soumis à des impacts élevés (17, 295), sur le membre qui est majoritairement utilisé dans les sports de raquettes (560) ou diffusée à l'ensemble du squelette dans les sports de musculation (297). Inversement, la densité minérale osseuse des sportifs qui pratiquent une discipline « portée » (natation, cyclisme), est peu différente de celle des non sportifs (296, 298, 561, 562).

Cependant, ces effets trophiques peuvent s'annuler voire s'inverser lorsqu'il existe un dysfonctionnement hormonal provoqué par une activité sportive trop intense (13, 83, 502, 563). En effet, des perturbations parfois sévères et prolongées de l'axe gonadotrope surviennent fréquemment chez des femmes qui pratiquent surtout un sport d'endurance (course à pied, ski de fond ...) ou une activité pour laquelle des critères de minceur sont exigés (gymnastique, danse, etc.) (508). Chez la sportive, cet hypogonadisme - qui a également été mis en évidence chez des sportifs masculins (14) - serait essentiellement la résultante d'un déficit de la balance énergétique dû à des apports nutritionnels inadaptés à la dépense énergétique (564, 565) qu'ils soient ou non, associés à une stratégie volontaire de restriction calorique. En effet, chez des femmes euménorrhéiques qui participaient à un programme associant restriction calorique progressive et activité physique pour laquelle la dépense énergétique était fixée, Loucks et al. (80) ont montré que l'altération de la pulsativité de la LH (gonadotrophine hypophysaire qui contrôle la synthèse ovarienne d'œstradiol) apparaissait lorsque le déficit énergétique était supérieur ou égal à 42% des apports nécessaires pour équilibrer la dépense énergétique quotidienne. Cette altération de la fonction gonadotrope s'accompagnait également d'un dysfonctionnement de la fonction somatotrope,

(dont l'équilibre nutritionnel est un puissant régulateur) assimilé à un syndrome de résistance à la GH [diminution de la concentration plasmatique d'insuline like Growth factor 1 (IGF1) et augmentation de la sécrétion hypophysaire d'hormone de croissance (GH)], (234).

De plus, l'axe somatotrope dont le principal effecteur est la GH qui est sécrétée par l'hypophyse, contrôle non seulement la croissance squelettique (180) mais également la masse osseuse (273). En effet, les sujets adultes qui ont un déficit sécrétoire en GH ont une diminution de la densitométrie osseuse réversible lorsqu'un traitement substitutif leur est administré [revue in (273)]. La GH exerce vraisemblablement des effets sur le tissu osseux directement mais aussi, et surtout, par l'intermédiaire de l'IGF1, facteur de croissance dont elle stimule la synthèse hépatique et tissulaire (173). Ainsi, les données issues des expérimentations *in vitro* et animales qui montrent que l'axe somatotrope (plus particulièrement l'IGF1) exerce un effet trophique sur le tissu osseux sont confirmées par les données épidémiologiques effectuées chez l'adulte jeune ou l'adolescent. En effet, il a été montré que la concentration plasmatique d'IGF1 était positivement corrélée à la DMO et à la masse maigre (566, 567).

Bien que les relations entre les irrégularités menstruelles et les altérations de la DMO aient été largement étudiées chez les athlètes féminines (13, 568), peu d'études se sont intéressées aux relations entre DMO et l'axe somatotrope chez des sportives aménorrhéiques. Dans ce travail, il nous a donc semblé intéressant d'analyser au sein d'une population de cyclistes françaises de haut niveau la répercussion de l'altération de la fonction somatotrope sur le contenu minéral osseux. Nous avons également voulu vérifier s'il existait une influence particulière de la discipline pratiquée (endurance ou résistance) sur ces paramètres. En effet, les cyclistes qui pratiquent une discipline d'endurance, ont une activité qui a la particularité d'entraîner peu de sollicitations squelettiques ainsi qu'une dépense énergétique élevée susceptible d'entraîner des perturbations des axes gonadotrope et somatotrope.

### **Cyclistes, matériel et méthodes**

#### **Cyclistes**

Quarante huit cyclistes féminines de haut niveau dont les caractéristiques sont données dans le tableau I, ont accepté de participer à notre étude. Ces sportives qui ont été incluses au début de deux saisons sportives, étaient soumises au suivi médical réglementaire de la fédération française de Cyclisme imposé par le code de santé publique (Livret VI articles L 3611 et suivants). En raison de la faiblesse des effectifs, les cyclistes ont été regroupées dans la catégorie « endurance » ou « résistance » en fonction de la prédominance du métabolisme

énergétique utilisé en compétition ou à l'entraînement. Ainsi, les catégories d'endurance regroupaient les disciplines sportives utilisant principalement le métabolisme aérobie, alors que les catégories de résistance regroupaient celles qui utilisaient de façon prépondérante la glycolyse anaérobie. Trente huit cyclistes sur 48 (79.1%) pratiquaient une discipline d'endurance (24 la route, 5 la poursuite, 9 le cross country) contre 10 sur 48 (20.9%) une discipline de résistance (4 la vitesse sur piste, 2 la descente et 4 le bi-cross).

Un questionnaire leur était adressé demandant leur poids, leur taille, l'âge des premières règles, si elles utilisaient une contraception orale contenant des œstrogènes, si elles avaient déjà eu un ou plusieurs épisodes d'aménorrhée (défini comme la disparition des règles pendant 3 mois consécutifs) ainsi que l'année du début de la pratique intensive du sport définie comme une pratique hebdomadaire supérieure à 8 heures). Il était également joint la traduction française d'un auto-questionnaire de dépistage des conduites alimentaires (569).

**Tableau I Caractéristiques des cyclistes féminines de haut niveau**

	Age années	Age des premières règles	Contrace ption orale Nombre	Poids Kg	Taille m	Indice de masse corporelle kg/m <sup>2</sup>	Masse grasse %	Années d'entraîne ment intensif
Cyclistes pratiquant une discipline d'endurance (n = 38)	24,7 (5,6)	12,7 (2,7)	16 <sup>a</sup>	56,3 (6,2)	1,66 (0,06)	20,5 (1,5)	20,0 (5,2)	7,1 (4,6)
Cyclistes pratiquant une discipline de résistance (n= 10)	19,5 (2,0)*	12,3 (0,9)	6	59,3 (5,4)	1,64 (0,04)	22,0 (1,6)*	22,5 (2,4)	3,2 (2,4)
Total (n =48)	23,6 (5,5)	12,7 (2,5)	22	57,0 (6,2)	1,65 (0,05)	20,8 (1,6)	20,5 (4,9)	6,2 (4,5)

a :2 cyclistes avaient une substitution œstroprogestative (1 aménorrhée primaire, 1 aménorrhée secondaire)

Les valeurs sont exprimées en moyenne (déviation standard)

\* Endurance significativement différent de résistance p < 0,01

### Mesure de la densitométrie osseuse (DMO)

Etant donné que cet examen n'était pas prévu par le règlement de la FFC, il a été réalisé chez 48 cyclistes volontaires sur une population totale de 75 et après obtention de leur consentement éclairé. La densitométrie osseuse a été mesurée dans plusieurs centres hospitaliers universitaires français en raison de la dispersion géographique des cyclistes. Les appareils ont été étalonnés à l'aide d'un squelette fantôme circulant dans l'ensemble des centres. La mesure de la DMO a été réalisée par absorptiométrie biphotonique (HOLOGIC) pour 38 cyclistes, LUNAR pour 10 cyclistes. Pour 16 cyclistes, les ostéodensitométries

effectuées à 2 reprises à 24 mois d'intervalle ont été réalisées avec le même appareil et dans le même centre d'investigation.

La mesure de la DMO a été réalisée sur 2 régions squelettiques : le rachis lombaire de la deuxième (L2) à la quatrième vertèbre lombaire (L4), l'extrémité supérieure du fémur (col fémoral et trochanter). Les valeurs du contenu minéral osseux ont été analysées en T score d'après les références établies pour la population féminine française âgée de 20 à 40 ans par Sabatier et al. (communication personnelle).

La définition du T Score que nous avons utilisée est la suivante :

$$T \text{ SCORE} = (\text{DMO observée} - \text{DMO population théorique}) / \text{Ecart type population théorique}$$

Le pourcentage de masse grasse a été également mesuré par absorptiométrie.

### **Analyses de laboratoire**

Les prélèvements sanguins des cyclistes ont été effectués au cours du suivi médical réglementaire de la FFC qui prévoit 3 prélèvements annuels au mois d'avril (début de saison de compétition), au mois de juillet (pleine activité sportive) et à l'automne (période de semi-repos). De façon à éviter une influence éventuelle de l'activité saisonnière, seuls les prélèvements réalisés au mois d'avril ont été sélectionnés pour analyse.

Un échantillon de sang était prélevé dans une veine antécubitale au repos, le matin à jeun entre 7 heures 30 et 9 heures 30. Le sang était centrifugé, puis réparti en différents aliquots réfrigérés à -80°C. Ils étaient ensuite transférés dans le même laboratoire pour être analysés.

La concentration plasmatique d'IGF1 était dosée par immunoradiométrie après séparation des IGFBP (Immunotech SAS ; Marseille - France). Les coefficients de variation (CV) intra-séries étaient respectivement de 5.92 % et 4.07 % à 267 et 352 µg/L. Le coefficient de variation inter-séries moyen de 5.1%.

La concentration plasmatique d'IGFBP3 était dosée par RIA (Diagnostic System Laboratory Inc, Webster – Texas, USA). La limite de détection du dosage est de 0.25 mg/L. Les CV intra-séries étaient respectivement de 8.0, 3.4 et 3.8% à 0.56, 1.72 et 3.08 mg/L et les CV inter-séries de 5.3 et 6.3% à 0.6 et 1.69 mg/L.

La concentration plasmatique d'ostéocalcine était dosée par immunoradiométrie reconnaissant l'ostéocalcine intact et le fragment 1-43 (Elsa-CT. Cis bio international. Gif sur Yvette, France). La limite de détection était de 2 ng/ml. Le CV intra-séries était de 2.8 % et 5.2% à 29.6 ng/ml et 54 ng/ml et le CV inter-séries de 1.2% et 3.6 % à 22 et à 45ng/ml.

La concentration plasmatique de l'isomère β du télopeptide C-terminal du collagène de type I (β-CTX) était dosée par technique immunoenzymatique (Serum CrossLaps One Step Elisa,

Nordik Biosciences - Danemark). La limite de détection du dosage était de 300 pmol/ml. Le CV intra-séries et inter-séries étaient inférieurs à 10%.

En raison de la décroissance rapide avec l'âge des marqueurs osseux et de l'axe somatotrope après la fin de la croissance, les valeurs d'IGF1, IGFBP3, ostéocalcine et de  $\beta$ -CTX obtenues ont été transformées en Z score de manière à pouvoir comparer les valeurs entre les différentes tranches d'âge. Le Z score étant défini de la façon suivante :

$$Z \text{ SCORE} = \frac{\text{Valeur observée} - \text{moyenne population théorique pour la tranche d'âge considérée}}{\text{Ecart type population théorique pour la tranche d'âge considérée}}$$

### Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées au moyen du logiciel Statview pour Windows version 5.0 (SAS Institute Inc). Les tests de comparaison de moyenne pour échantillons indépendant ainsi que les tests de corrélation (Pearson) ont été utilisés.

L'hypothèse nulle était rejetée pour un seuil de significativité inférieur à 5% ( $p < 0.05$ ).

### Résultats

Les valeurs des tableaux sont présentées en moyenne (déviations standard).

La DMO du rachis lombaire de l'ensemble des cyclistes féminines étaient comparables aux valeurs attendues au sein d'une population féminine de 20 à 40 ans (tableau II). En revanche, elles tendaient à être supérieures pour l'extrémité supérieure du col fémoral (col fémoral total et trochanter) qui contient une prédominance d'os cortical.

**Tableau II : Densité minérale osseuse des cyclistes élités**

	L2-L4 T Score	Col fémoral T Score	Trochanter T Score	Total fémur T score
Cyclistes pratiquant une discipline d'endurance (n = 38)	-0,2 (1,09)	-0,16 (1,16)	0,23 (1,20)	0,07 (1,07)
Cycliste pratiquant une discipline de résistance (n= 10)	0,59 # (0,60)	0,38 (0,49)	0,94 (0,72)	0,63 (0,59)
Total (n =48)	-0,04 (1,06)	-0,04 (1,07)	0,39 (1,15)	0,19 (1,01)

# Différence significative résistance versus endurance  $p = 0,03$ .

Les concentrations plasmatiques d'IGF1 des cyclistes (exprimées en Z score) étaient discrètement inférieures à celle qui étaient attendues au sein d'une population non sportive du même âge (tableau III). Celles d'ostéocalcine étaient plus basses. Les cyclistes d'endurance avaient une DMO significativement plus faible au rachis lombaire que les cyclistes de

résistance. Il existait une diminution nette mais non significative sur le trochanter ( $p = 0,09$ ). Les concentrations plasmatiques d'IGF1, d'IGFBP3, de  $\beta$ -CTX et d'ostéocalcine ne différaient pas significativement entre les cyclistes des 2 catégories. La normalisation en fonction de l'âge ne modifiait pas la signification statistique (tableau III).

**Tableau III : Marqueurs de l'axe somatotrope et du remodelage osseux chez les cyclistes élites féminines**

	IGF I ng/ml	IGF1 Z score	IGFBP3 µg/ml	IGFBP3 µg/ml	$\beta$ CTX (pmol/ml)	$\beta$ CTX Z score	T1 Ostéo calcine (ng/ml)	Ostéo calcine Z Score
Cyclistes pratiquant une discipline d'endurance (n = 35)	349 (180)	-0,20 (1,98)	5,58 (1,16)	1,3 (1,9)	2985 (1507)	-0,5 (1,8)	20,6 (11,3)	-1,19 (2,62)
Cycliste pratiquant une discipline de résistance (n= 10)	396 (102)	0,00 (0,99)	5,68 (0,97)	1,3 (1,2)	4163 (1653)	-0,6 (1,7)	31,8 (23,9)	0,70 (5,02)
Total	359 (167)	-0,16 (1,81)	5,60 (1,12)	1,3 (1,8)	3221 (1608)	-0,5 (1,8)	23,1 (15,7)	-0,77 (3,40)

L'IGF1 était positivement corrélé à la DMO, de même que le  $\beta$ -CTX à un moindre degré (tableau IV).

Il existait également une corrélation positive entre IGF1 et IGFBP3 ( $r = 0,42$  ;  $p = 0,02$ ), IGF1 et ostéocalcine ( $r = 0,40$  ;  $p < 0,01$ ), IGF1 et CTX ( $r = 0,43$  ;  $p < 0,01$ ) et CTX et ostéocalcine ( $r = 0,74$  ;  $p < 0,01$ ). Il existait une corrélation négative entre l'âge et la DMO des cyclistes (T-Score) au col fémoral ( $r = -0,54$  ;  $p < 0,01$ ), au trochanter ( $r = -0,37$ ,  $p = 0,01$ ) et sur la totalité de l'extrémité supérieure du fémur ( $r = -0,42$ ,  $p < 0,01$ ). Cette corrélation n'existait pas au rachis lombaire ( $r = -0,24$ ,  $p = 0,11$ ). L'âge était également négativement corrélé avec la concentration plasmatique d'IGF1 ( $r = -0,58$ ,  $p < 0,01$ ), d'IGFBP3 ( $r = -0,45$ ,  $p < 0,01$ ) mais pas avec l'ostéocalcine ( $r = -0,27$ ,  $p < 0,10$ ) ni le  $\beta$ -CTX ( $r = -0,34$ ,  $p = 0,05$ ), même s'il existait une forte tendance.

**Tableau IV : Corrélations entre la DMO et les marqueurs de l'axe somatotrope et du remodelage osseux chez les cyclistes élite féminines**

	T Score L2-L4	T-Score col fémoral	T-Score trochanter	T-Score Total fémur
IGF1 ng/ml N = 44	r = 0,47	r=0,50	r=0,44	r=0,41
IGFBP3 µg/m N=31	r=0,10	r=0,13	r=-0,04	r=-0,04
Ostéocalcine ng/ml N= 44	r=0,06	r=0,21	r=0,14	r=0,14
β-CTX ng/ml N = 30	r=0,27	r=0,21	r=0,30	r=0,26

### Caractéristiques des cyclistes ayant une ostéopénie

Quatorze cyclistes sur 48 (29.2%) avaient une ostéopénie (T score < -1) sur au moins 1 des 2 sites osseux. 5 avaient une atteinte rachidienne isolée, 4 une atteinte fémorale isolée et 5 une atteinte bifocale. Une seule avait une ostéoporose rachidienne (T score < -2,5). L'indice de masse corporelle était plus faible ( $19,6 \pm 1,1$  versus  $21,3 \pm 1,6$  kg/m<sup>2</sup> ; p < 0,01), l'âge de la ménarche était plus tardif ( $14,2 \pm 2,7$  versus  $12,0 \pm 1,2$  ans ; p < 0,01) chez les cycliste sportives qui avaient une DMO diminuée par rapport à celles qui avaient une DMO normale. L'âge et le pourcentage de masse grasse ne différaient pas statistiquement. Les données sur les troubles du comportement alimentaires ont été recueillies chez 34 cyclistes. Quatre sur 11 (36.4%) qui étaient ostéopéniques contre 8 sur 23 (34,5 %) non ostéopéniques (non significatif) présentaient probablement un trouble du comportement alimentaire.

**Tableau V : Comparaison des données biologiques en fonction du statut ostéodensitométrique**

	IGF ng/ml	I score	IGF1 score	Z	IGFBP3 µg/ml	β-CTX ng/ml	T1 Ostéo calcine (ng/ml)	Ostéo calcine Score	Z
Ostéopénies n=14	279 (106)	-0,99 (1,35)			5,85 (0,90)	2450 (966)	18,6 (13,9)	-1,46 (3,19)	
Non ostéopéniques n=34	388 (175)#	0,14 (1,86)			5,51 (1,18)	3501 (1700)	24,8 (16,0)	-0,52 (3,44)	

# Différence significative entre ostéopéniques et non ostéopéniques

Seules les concentrations plasmatiques d'IGF1 étaient significativement plus basses chez les cyclistes ostéopéniques (tableau V). Cette différence disparaissait après correction par l'âge.

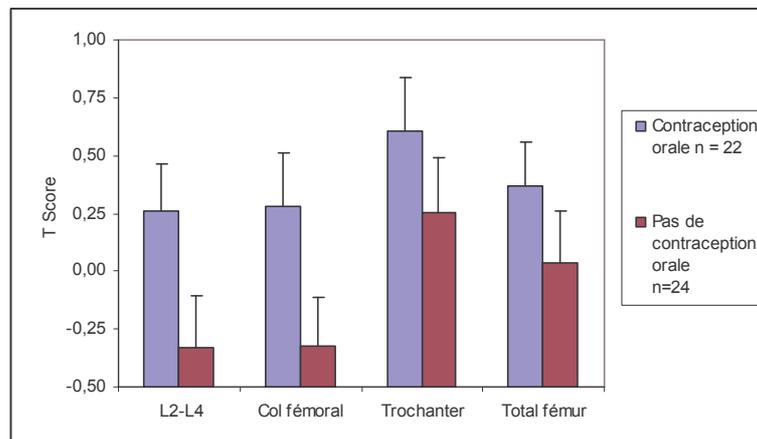
Toutes les cyclistes qui étaient ostéopéniques pratiquaient une discipline d'endurance. Onze sur 14 étaient en aménorrhée ou avaient déjà eu un épisode d'aménorrhée, 3 n'ayant pu préciser leur statut menstruel car elles étaient sous contraception orale.

### Influence de la contraception œstroprogestative

Les 22 cyclistes qui ont déclaré la prise d'une contraception orale (tableau I) étaient plus jeunes ( $21,1 \pm 3,2$  versus  $25,6 \pm 5,3$  ans ;  $p < 0,01$ ). Leur poids ( $58,6 \pm 6,4$  versus  $55,2 \pm 5,7$  kg/m<sup>2</sup> ;  $p = 0,07$  NS) et leur pourcentage de masse grasse ( $21,6 \pm 5,1$  versus  $18,9 \pm 4,1$  % ;  $p = 0,10$ , NS) étaient plus élevés que les cyclistes qui n'étaient pas sous contraception sans atteindre le seuil de significativité. Dix cyclistes sur 22 avaient présenté des irrégularités menstruelles contre 13 sur 24 (non significatif) dans le groupe sans contraception. La prise de contraception orale au moment du prélèvement n'a pu être déterminée pour 2 sportives.

La DMO des cyclistes sous contraception orale tendait à être supérieure à celle des cyclistes sans contraception au rachis lombaire ( $p = 0,06$ ) et au col fémoral ( $p = 0,06$ ) (figure N°1).

**Figure N°1 : Influence de la contraception œstroprogestative sur la densité minérale osseuse**



Les valeurs sont présentées en moyenne  $\pm$  écart réduit de la moyenne

Les cyclistes sous contraception œstroprogestative avaient une concentration plasmatique d'IGF1 et d'IGFBP3 supérieure à celle des autres cyclistes. Cet effet n'était plus significatif après transformation des valeurs en fonction de l'âge pour l'IGF1 ( $p = 0,14$ ) (tableau VI).

**Tableau VI : Effets de la contraception orale sur l'axe somatotrope et le remodelage osseux**

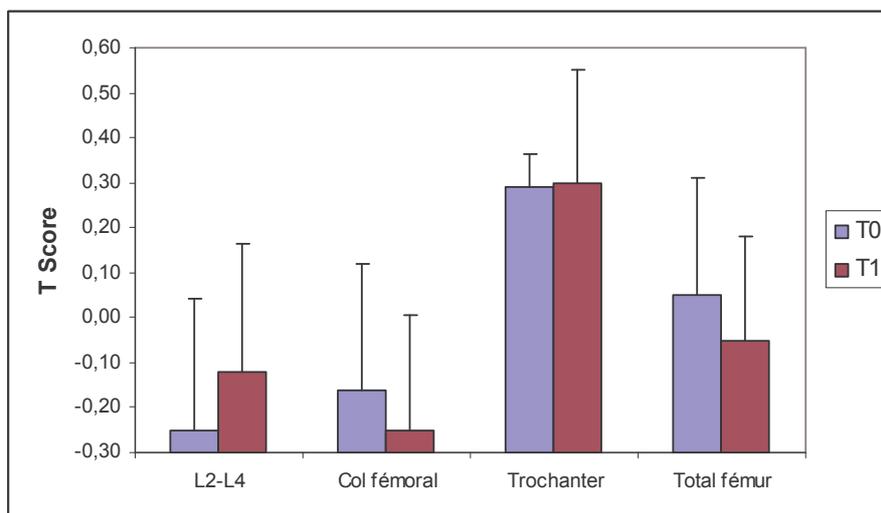
	IGF I ng/ml	IGF1 Z score	IGFBP3 µg/ml	CTX pmol /ml	T1 Ostéo calcine (ng/ml)	Ostéo calcine Z Score
Cyclistes sous CO n = 22	407 (176)	0,25 (1,94)	6,04 (0,93)	2885 (1262)	23,3 (18,2)	-1,01 (3,81)
Cyclistes sans CO n=24	314 (143)#	-0,55 (1,59)	5,13 (1,12)#	3642 (1839)	22,9 (12,9)	-0,54 (2,94)

# Différence significative contraception versus sans contraception  $p < 0,05$

### Evolution de la DMO et des paramètres biologiques des cyclistes élités

Seize cyclistes volontaires ont effectué 2 ostéodensitométries à 2 ans d'intervalle. 6 étaient sous contraception orale, 14 sur 16 pratiquaient une discipline d'endurance et 9 avaient des irrégularités menstruelles. Cinq (31,5 %) présentaient une ostéopénie sur au moins un des sites.

Les données anthropométriques ne montraient pas de variation significative du poids ( $55,6 \pm 5,4$  versus  $56,1 \pm 5,4$  kg), de l'IMC ( $20,5 \pm 1,3$  versus  $20,7 \pm 1,6$  kg/m<sup>2</sup>), ni du pourcentage de masse grasse ( $19,2 \pm 3,7$  versus  $19,2 \pm 4,7$  %) durant le suivi.

**Figure n°2 : Evolution de la DMO**

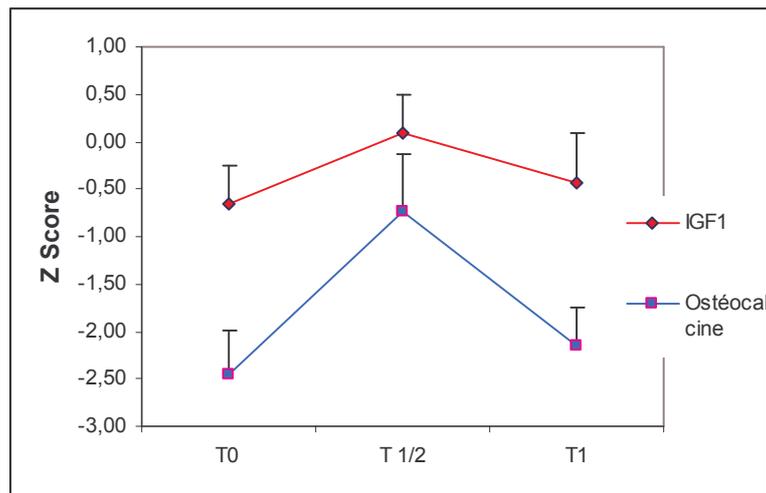
TO : valeurs initiales, T1 valeurs à 2 ans.

Les valeurs sont présentées en moyenne  $\pm$  écart réduit de la moyenne

Aucune des variations de DMO n'atteignait le seuil de significativité (figure N°2). Seul le gain de masse osseuse observé pour le rachis lombaire approchait le seuil de significativité ( $p = 0,08$ ).

L'évolution des concentrations plasmatiques d'IGF1 et d'ostéocalcine corrigées en fonction de l'âge ne différaient pas significativement (respectivement  $p = 0,39$  et  $p = 0,06$ ).

**Figure N°3 : Evolution de la concentration plasmatique d'IGF1 et d'ostéocalcine**



TO : valeurs initiales, T1/2 valeurs à T0 + 1 an T1 valeurs à T0 + 2 ans

Les valeurs sont présentées en moyenne  $\pm$  écart réduit de la moyenne

### Discussion

Par rapport aux valeurs attendues au sein d'une population féminine du même âge et non sportive, nos données montrent que la pratique intensive du cyclisme, toutes disciplines confondues, a un retentissement modéré sur la DMO et l'axe somatotrope (Tableau II). Par contre, il existe une diminution de l'ostéof ormation comme le montre les valeurs d'ostéocalcine corrigées en fonction de l'âge.

**Densité minérale osseuse :** Les résultats de notre étude confirment ceux des quelques études qui ont intéressé les femmes ou les hommes cyclistes, et qui ont montré que, contrairement à ce qui est observé dans les sports d'impacts, le cyclisme, qui est une discipline portée comme la natation n'exerce pas d'action ostéoformatrice (298, 561, 570, 571). Certaines ont même montré que la DMO du rachis lombaire pouvait être réduite (87).

Toutefois, les données du tableau II permettent de constater que la DMO varie en fonction de la discipline pratiquée (tableau II). En effet, la DMO du rachis lombaire est supérieure chez les cyclistes de résistance et il existe une tendance à l'augmentation pour celle de l'extrémité supérieure du fémur. Il est probable que cette différence aurait été significative si l'effectif des

sportives de résistance avait été plus important. Plusieurs éléments permettent d'expliquer ces différences : (i) les sollicitations squelettiques ne sont pas les mêmes dans chaque discipline (ii) l'âge des sportives d'endurance était plus élevé (iii) le nombre de cyclistes ayant des irrégularités menstruelles était supérieur chez les cyclistes d'endurance. En effet, les cyclistes de résistance pratiquent des disciplines qui nécessitent des séances de musculation utilisant de lourdes charges (vitesse, Bi cross) ou qui provoquent de nombreux impacts lors de la réception de sauts ainsi que de nombreuses vibrations (descente, bi-cross). Ces contraintes, qui sont absentes dans la pratique du cyclisme sur route, sollicitent l'ensemble du squelette et sont donc des facteurs d'ostéogenèse (17, 295, 571). Nos résultats sont également corrélés à ceux de Warner et al. (572) qui ont montré que les cyclistes sur route masculins avaient une DMO inférieure à celle des pratiquants de VTT cross country. En effet, ces cyclistes, bien que pratiquant une discipline d'endurance, sont soumis à des secousses et des vibrations importantes pouvant expliquer un effet anabolisant sur l'os.

Par ailleurs, les cyclistes de résistance étaient plus jeunes que celles pratiquant une discipline d'endurance (tableau I), la plupart d'entre elles ayant moins de 20 ans. Il est possible que ces sportives dont certaines étaient encore en fin de croissance aient acquis grâce à l'activité sportive une accréation osseuse supplémentaire, leur permettant d'obtenir un pic de masse osseuse supérieur. Plusieurs études ont en effet montré le rôle positif de l'activité physique sur le pic de masse osseuse durant l'adolescence (567, 573, 574), avec un rôle spécifique des impacts en fin de puberté (573), ce qui était le cas des cyclistes de résistance de cette étude.

Le statut menstruel constituait également une différence essentielle entre les cyclistes d'endurance et de résistance. En effet, l'ensemble des sportives qui avaient une ostéopénie (T score < -1 sur au moins un des sites osseux) pratiquait une discipline d'endurance, dont 10 sur 14 au moins présentaient ou avaient présenté un ou plusieurs épisodes d'aménorrhée. Ces résultats confirment ceux de nombreuses publications qui ont clairement établi le lien entre les perturbations du cycle menstruel et la diminution de la DMO chez la femme sportive, notamment dans les sports d'endurance (13, 83, 504, 561, 563, 568, 575). Les cyclistes de notre étude présentaient les facteurs de risques d'ostéopénie (83, 508) qui sont habituellement décrits, à savoir un âge des premières règles plus tardif et IMC plus faible. Par contre, il n'y avait pas de différence sur le pourcentage de masse grasse. De manière surprenante, les cyclistes ostéopéniques ne présentaient pas une fréquence de troubles du comportement alimentaire supérieure à celle des non ostéopéniques. Il est donc possible que les cyclistes qui avaient un trouble du comportement alimentaire sans diminution de la masse osseuse avaient moins de troubles restrictifs (cette distinction n'était pas possible avec le questionnaire utilisé)

ou que le questionnaire ait sous-estimé les formes mineures et restrictives de troubles du comportement alimentaire (568). Par ailleurs les cyclistes ostéopéniques étant plus âgées, il est possible que la diminution de la DMO était la conséquence d'un trouble du comportement alimentaire antérieur à l'étude qui avait régressé (568).

**Rôle de l'axe somatotrope :** Les données de notre étude ont montré l'existence d'une corrélation positive entre la concentration plasmatique d'IGF1 (mais pas avec IGFBP3) et la DMO quel que soit le site osseux (tableau III). Cette corrélation persistait après correction des valeurs d'IGF1 en fonction de l'âge (données non montrées). Nos résultats sont conformes avec ceux de certaines études épidémiologiques antérieures effectuées chez des sujets sains (465, 576), alors que d'autres études n'ont pas mis en évidence de relation (567) ou une liaison statistique en fonction du sexe (577). Ces différences alors qu'il existe de nombreux arguments expérimentaux *in vitro*, chez l'animal ou l'homme montrant les effets de l'IGF1 sur le métabolisme osseux (273), sont probablement liés au fait que l'axe somatotrope exerce un contrôle de la croissance tissulaire de manière essentiellement auto/paracrine chez l'individu sain (322). Cependant, l'IGF1 endocrine - dont la production ainsi que celle de l'IGFBP3 est assurée par le foie sous la dépendance de la GH - est également impliqué dans le contrôle de la masse osseuse puisque sa concentration plasmatique est diminuée en cas d'ostéoporose (578) ou de déficit de sécrétion de GH (273).

Notre étude suggère également que l'IGF1 exerce un contrôle sur la DMO puisque les cyclistes ostéopéniques avaient une concentration plasmatique d'IGF1 inférieure à celle des sportives non ostéopéniques, même si cette différence était atténuée après correction par l'âge. Le mécanisme de cette altération a probablement pour origine un déficit nutritionnel chronique provoqué par une dépense énergétique élevée non compensée par des apports caloriques adéquats (80, 88, 564, 579). En effet, l'axe somatotrope étant régulé par la nutrition (234), un déséquilibre nutritionnel provoque de profondes modifications des concentrations plasmatiques d'IGF1 et des protéines de liaison spécifiques (IGFBP). Ainsi, les situations de dénutrition chronique comme l'anorexie mentale, provoquent une diminution de l'IGF1, de l'IGFBP3, de l'ALS (309). Ces altérations témoignant d'un bas métabolisme ont été également constatées chez les sportives en aménorrhée (580) ou lors de la provocation expérimentale d'un déficit énergétique (80). Les cyclistes ostéopéniques présentaient également des signes de bas métabolisme puisque l'indice de masse corporelle était inférieur à celui des non-ostéopéniques. Cependant, les mécanismes responsables de l'ostéopénie provoqués par un déficit calorique sont complexes car, en plus des altérations de l'axe gonadotrope et somatotrope, il existe d'autres altérations hormonales (diminution de l'activité

thyroïdienne, augmentation de la concentration plasmatique de cortisol et surtout diminution de la concentration plasmatique de leptine) qui ont toutes une action sur le contrôle de la fonction ostéoblastique (332).

### **Rôle de la contraception orale**

Dans notre étude, la DMO des sportives sous contraception orale tendait à être supérieure à celle des sportives sans contraception. Les effets de la contraception œstroprogestative sur la DMO des sportives sont débattus et contrastés et dépendent probablement du degré d'atteinte de l'axe gonadotrope. Ainsi chez la sportive euménorrhéique, la CO va diminuer la synthèse endogène d'œstradiol. La concentration résiduelle d'œstradiol pouvant alors être inférieure aux valeurs physiologiques et provoquer une diminution de la formation osseuse. Au contraire, chez la sportive en hypogonadisme la quantité d'œstrogène délivrée augmentera et aura un effet ostéoformateur (581). Ainsi Weaver et al. (581) ont constaté que les femmes sportives non aménorrhéiques sous CO avaient une diminution initiale de la DMO. Inversement, les études qui ont concerné des sportives en aménorrhée sous CO ont observé un gain de masse osseuse qui était cependant insuffisant pour atteindre des valeurs normales [revue in (579)]. Dans notre étude, il était difficile d'attribuer le gain de DMO à la CO seule, puisque les cyclistes sous CO étaient plus jeunes.

Les concentrations plasmatiques des marqueurs du remodelage osseux des cyclistes sous CO tendaient à être inférieures à celle des cyclistes qui ne prenaient pas de CO. Cette tendance était plus marquée pour l'ostéocalcine (exprimée en Z score), que pour le  $\beta$ -CTX (tableau VI). Il s'agit vraisemblablement d'un effet des CO puisque les valeurs d'ostéocalcine (Z Score) étaient inférieures chez ces cyclistes qui étaient plus jeunes. Bien que l'effet de la CO sur le remodelage osseux soit également discuté en raison de l'âge et du statut œstrogénique différents (278), des études plus récentes ont montré qu'il existait une diminution du remodelage osseux chez les femmes jeunes sous contraception œstroprogestative (582, 583).

De façon inattendue, les concentrations plasmatiques d'IGF1 étaient plus élevées chez les cyclistes sous contraception orale (tableau VI). En effet, plusieurs travaux ont montré que l'administration d'œstrogènes par voie orale entraînait une diminution de la synthèse hépatique d'IGF1 [revue in (208)]. Cette contradiction apparente ne pouvait uniquement être expliquée par la différence d'âge entre les 2 groupes de cyclistes puisque les valeurs d'IGF1 sous CO tendaient à être supérieures après correction en fonction de l'âge. Il est vraisemblable que les cyclistes sous CO avaient également un meilleur statut nutritionnel puisque leur poids et leur pourcentage de masse grasse tendaient à être supérieurs, bien que les éléments dont

nous disposons ne permettent pas d'éliminer un effet de la CO sur la composition corporelle, ni un effet combiné de l'activité sportive et des CO sur la synthèse d'IGF1.

### **Evolution de la DMO**

L'évolution sur 2 ans ne montre pas de différence pour les marqueurs osseux ni pour celle de l'IGF1 plasmatique. Seule la DMO du rachis lombaire montrait une tendance à l'augmentation. Bien que l'effectif soit réduit, il semble donc que les altérations ou les gains de masse osseuse restent stables malgré la poursuite de la pratique intensive du cyclisme pour lesquelles ni les caractéristiques anthropométriques, ni les paramètres métaboliques n'ont varié. Il est donc probable que la diminution de la DMO soit liée à trouble antérieur ou à une acquisition insuffisante du pic de masse osseuse puisque les règles des cyclistes ostéopéniques apparaissent plus tardivement réduisant ainsi la durée de l'imprégnation œstrogénique. Ainsi, notre étude semble indiquer que la pratique intensive du cyclisme n'aggrave pas l'ostéopénie dans la mesure où l'équilibre nutritionnel est respecté.

### **En conclusion :**

Cette étude a montré que la pratique intensive du cyclisme était associée à de faibles modifications sur l'axe somatotrope et la DMO. Toutefois, les effets observés dépendent de la discipline pratiquée. En effet, à l'inverse des cyclistes de « résistance » qui bénéficient des sollicitations squelettiques provoquées par l'activité sportive et d'une dépense calorique moins importante, les cyclistes d'endurance présente des signes de déficit énergétique qui peut être responsable d'une diminution de la DMO en provoquant une altération de l'axe gonadotrope et de l'axe somatotrope.

Ainsi la mesure de la DMO et de la concentration plasmatique d'IGF1 apparaissent des indicateurs importants dans le suivi des sportives à risques dans le dépistage des ostéopénies mais aussi des troubles restrictifs du comportement alimentaire.

Etant donné que ces troubles sont déclenchés par un déficit énergétique, leur traitement nécessite idéalement une reprise pondérale qui est cependant difficile à réaliser chez ces sportives qui ont un trouble du comportement alimentaire et de l'image corporelle.

Le traitement hormonal substitutif à base d'œstrogènes ou la CO ayant une efficacité limitée pour augmenter la DMO, des investigations ultérieures sont nécessaires pour mieux préciser la place de leur utilisation.

## **16 Etudes sur les effets de de l'effort musculaire sur l'axe somatotrope**

Dans le chapitre traitant de l'effet d'un effort musculaire sur l'axe somatotrope (Cf. chapitre VII), nous avons vu que les variations transitoires de la concentration plasmatique de GH provoquées par l'effort musculaire dépendaient d'abord de son intensité (387), et à un moindre degré, de sa durée et de son type (résistance ou endurance. Inversement, nous avons vu que les effets de l'effort musculaire sur les concentrations plasmatiques des marqueurs de l'axe somatotrope, notamment du complexe ternaire (IGF1, IGFBP3 et ALS), variaient selon les études. On peut en déduire que, globalement, l'effort musculaire exerce un effet de faible amplitude et transitoire sur les concentrations plasmatiques d'IGF1. Bien que la signification physiologique de ces modifications ne soit pas bien comprises, elles peuvent néanmoins permettre d'utiliser ces paramètres pour dépister indirectement un dopage à la GH (101, 102). Dans ces conditions, un dosage sérique d'IGF1 qui serait réalisé immédiatement après une compétition pourrait, à tort, être considéré comme anormalement élevé. Ainsi, Healy et al. (101) ont constaté que les valeurs d'IGF1 obtenues immédiatement après une compétition étaient supérieures aux valeurs basales. Pour rendre opérationnel le dosage de ce paramètre dans la lutte antidopage, ces auteurs concluaient qu'il fallait établir des normes d'IGF1 plasmatique après un effort musculaire.

Avant de proposer l'interprétation des taux plasmatiques d'IGF1 ou d'IGFBP3 chez des sportifs de haut niveau, nous avons voulu vérifier comment ces paramètres variaient chez des adultes jeunes peu entraînés. Ainsi, nous avons réalisés 2 études à différents niveaux d'intensité et de durée. Ces efforts qui ont été réalisés en laboratoire ne reproduisaient pas une discipline sportive particulière. La première étude impliquait un effort continu et prolongé (dit en créneaux) (Cf. figure n°1) permettant de solliciter intensément l'organisme sans l'épuiser. C'est le principe qui est utilisé pour l'entraînement intermittent (intervalle training) dans les sports d'endurance. La seconde étude consistait à réaliser un effort musculaire continu au moyen de 3 paliers d'intensité croissante, le dernier palier étant à intensité très élevée proche de l'épuisement (Cf. figure n°2). Ces 2 types d'effort ont potentiellement la capacité d'entraîner des perturbations hormonales et métaboliques, notamment sur l'axe somatotrope. L'ergocycle et le tapis roulant ont été utilisés respectivement dans l'étude 1 et l'étude 2 pour vérifier si des réponses pouvaient varier en fonction de l'ergomètre.

### **Sujets, matériels et méthodes de l'étude 1**

Six sujets jeunes en bonne santé (5 hommes, 1 femme) sédentaires ou peu entraînés (pratiquant moins de 3 heures hebdomadaires d'activité physique essentiellement de la marche en montagne ou du vélo) ont accepté de participer à cette étude. Cette étude a été approuvée par le CCPPRB du CHU de Grenoble et réalisée après obtention du consentement éclairés des sportifs. Les caractéristiques des sujets sont données dans le tableau I.

**Tableau I : Caractéristiques des sujets de l'étude 1 :**

	Age (ans)	Poids (kg)	Taille (m)	IMC (kg/m <sup>2</sup> )	VO <sub>2</sub> max l/min	VO <sub>2</sub> max ml/kg/min
Moyenne	29,5	70,5	1,83	21,2	3,5	49,1
DS	6,2	10,2	0,07	3,2	1,0	9,8

L'étude a été réalisée en 2 temps, avec un intervalle de moins d'une semaine entre les tests:

Dans un premier temps, les sujets ont été examinés et ont eu une épreuve d'effort maximale pour éliminer une contre-indication médicale à réaliser un effort intense et prolongé et de déterminer les intensités qui seront utilisées lors de la deuxième partie du protocole expérimental. Après l'examen médical à orientation cardiorespiratoire, les sujets ont réalisés une épreuve d'effort maximale au moyen d'un ergocycle à frein mécanique (Ergomedic 828E, Monark Exercise, Vansbro, Suède). La puissance était augmentée toutes les 2 minutes pour obtenir l'épuisement des sujets. Le monitoring de la fonction cardiaque était assurée par un électrocardiogramme 12 pistes moyennée (ECT WS 2000, Cardioline, Remco, Italie) et la prise de la tension artérielle à chaque palier.

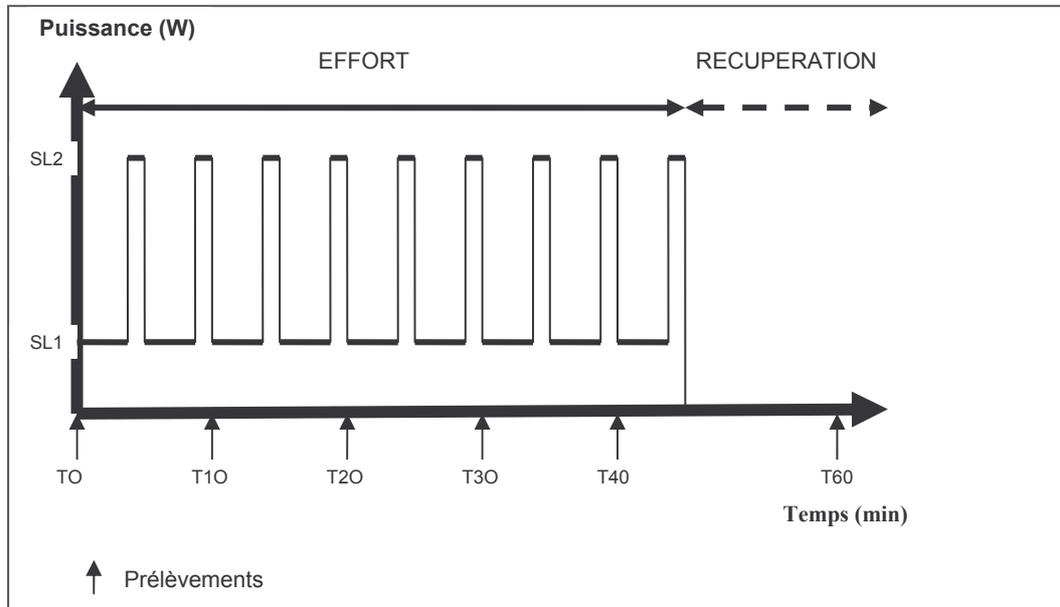
La mesure continue des paramètres ventilatoires et métaboliques était obtenue au moyen d'un métabographe utilisant une chambre de mélange (Metasys TRM, Brainware, Nice, France).

L'échantillon sanguin pour le dosage du lactate était prélevé en microcapillaire au doigt, à l'aide d'une micropipette (25 µl). Le dosage était effectué sur sang total (lactatémie) par technique enzymatique et mesuré par spectrophotométrie (Microzym, Biosentec, Toulouse, France). Ainsi les seuils lactiques (SL1 et SL2) ont été déterminés d'après les recommandations de la société française de médecine du Sport (1), permettant l'individualisation de l'épreuve d'effort expérimentale donnée dans la figure n°1.

Dans un second temps, une épreuve dite « en créneaux » était réalisée. Elle consistait en 9 créneaux de 5 minutes, contenant 4 minutes à SL1 et 1 minute à SL2, soit une durée totale de 45 minutes (figure n°1). Cette épreuve était réalisée en fin d'après midi (17 heures) de

manière à effectuer l'effort au moins 3 heures après la dernière prise alimentaire pour éviter toute influence sur les variations hormonales (367).

**Figure N° 1 : Protocole expérimental de l'étude 1 (SWEET 45)**



L'enregistrement continu des échanges gazeux a permis de mesurer la dépense énergétique par calorimétrie indirecte au moyen des équations suivantes (584):

$$\text{Débit d'oxydation glucidique (g/min)} : 4,585 \times \text{VCO}_2 - 3,2255 \times \text{VO}_2$$

$$\text{Débit d'oxydation lipidique (g/min)} : -1,7012 \times \text{VCO}_2 + 1,6946 \times \text{VO}_2$$

La dépense énergétique totale étant obtenue en additionnant les valeurs issues des équations sus-jacentes, multipliées par leur équivalent calorifique respectif (4 Kcal/g pour les glucides et 9 Kcal/g pour les lipides). Nous avons fait l'approximation que la quantité d'énergie produite par l'oxydation des protides était négligeable. Les valeurs ont été moyennées par période de 10 minutes, correspondant à 2 créneaux (figure n°3).

#### **Prélèvements :**

Un cathéter veineux était posé au pli du coude permettant les prélèvements sans interrompre l'effort. Les prélèvements étaient centrifugés et les sérums aliquotés, transportés dans de la carboglace avant d'être conservés à  $-70^{\circ}\text{C}$  pour analyse secondaire de la glycémie, l'insuline, du peptide C, du cortisol, de la GH, de l'IGF1 et de l'IGFBP3.

#### **Sujets, matériels et méthodes de l'étude 2**

Quinze hommes jeunes (sujets différents de l'étude 1) en bonne santé peu entraînés (pratiquant moins de 3 heures hebdomadaires d'activité physique) ont accepté de participer à cette étude. Cette étude a été approuvée par le CCPPRB du CHU de Grenoble et réalisée après obtention du consentement éclairés des sportifs. Les caractéristiques des sujets sont données dans le tableau II.

**Tableau II : Principales caractéristiques des sujets de l'étude 2**

Age (année)	Poids (kg)	Taille (m)	IMC (kg/m <sup>2</sup> )	FC max (bat/min)	% FMT	Lactate (mmol/L)	VO <sub>2</sub> max (ml/kg/min)
22,8	67,4	1,7	23,2	194	98	13,4	60,7
(1,0)	(5,8)	(0,05)	(2,3)	(9)	(4)	(1,8)	(9,1)

Valeurs exprimées en moyenne (DS)

L'étude 2 a été réalisée en 2 temps avec un intervalle d'une semaine entre les tests, pour les mêmes motifs et objectifs que l'étude 1. Après un examen médical à orientation cardiorespiratoire, les sujets ont réalisés une épreuve maximale sur tapis roulant (Gymrol Super 2500, Techmachine, Andrézieux-Bouthéon, France), d'intensité croissante toutes les minutes jusqu'à épuisement des sujets par augmentation de la pente ou de la vitesse de l'ergomètre. La surveillance cardiologique et la mesure des paramètres ventilatoires et métaboliques étaient identiques à celles de l'étude 1. Les valeurs obtenues au cours de cette épreuve sont données dans le tableau II.

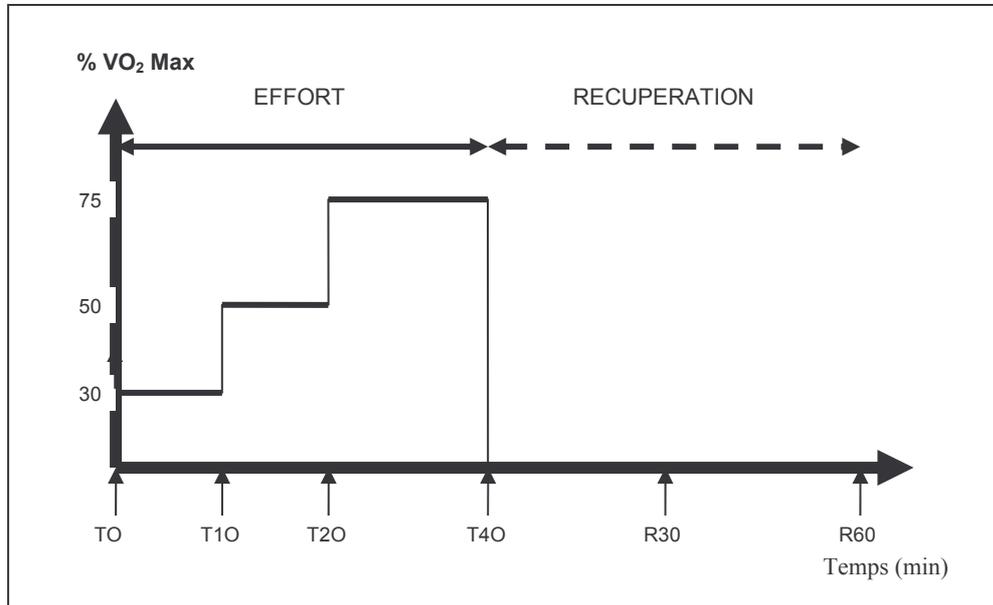
Dans un second temps, une épreuve d'intensité croissante d'une durée totale de 40 minutes était réalisée (figure N°2). Les participants ont effectué 3 paliers d'intensité différente, respectivement 10 minutes à 30% de la VO<sub>2</sub> max, 10 minutes à 50% de la VO<sub>2</sub> max et 20 minutes à 75% de la VO<sub>2</sub> max. Les échanges gazeux étaient mesurés en continu permettant d'adapter la pente ou la vitesse du tapis de manière à atteindre le plus précisément possible la VO<sub>2</sub> cible. Le pourcentage de VO<sub>2</sub> max atteint a été respectivement pour chaque palier de 28 ± 5, 43 ± 7 et 75 ± 10, correspondant à 4,7, 7,1 et 12,4 fois la VO<sub>2</sub> de repos. Cette épreuve était réalisée le matin (8 heures), les sujets étant à jeun depuis la veille au soir.

#### **Prélèvements :**

Un cathéter veineux était posé au pli du coude. L'effort était interrompu le temps nécessaire à la réalisation des prélèvements en position assise (environ 2 minutes). Les prélèvements étaient centrifugés et les sérums aliquotés, transportés dans de la carboglace avant d'être

conservés à  $-70^{\circ}\text{C}$  pour analyse secondaire de la glycémie, l'insuline, du peptide C, du cortisol, de la GH, de l'IGF1 et de l'IGFBP3.

**Figure N 2: Protocole expérimental de l'étude 2**



### Dosages métaboliques et hormonaux

Les méthodes de dosages utilisées étaient les mêmes pour les 2 études.

L'hématocrite et la concentration d'hémoglobine ont été obtenus à T0, T40 et R60 sur un automate (Coulter) de manière à corriger les concentrations plasmatiques selon (585) en fonction des variations du volume plasmatique induites par l'effort.

La glycémie était dosée sur sérum par méthode de glucose oxydase. Les valeurs de référence à jeun s'étendaient de 3,8 à 5,8 mmol/L

La concentration plasmatique de l'insuline était dosée par IRMA (Bi-insuline, Cis Bio international, Gif sur Yvette - France). Les valeurs de référence à jeun s'étendaient de 3 à 13  $\mu\text{Ui/ml}$ .

La concentration plasmatique du peptide C était dosée par IRMA (CPEP, Cis Bio international, Gif sur Yvette - France). Les valeurs de référence à jeun s'étendaient de 1,06 à 3,53 ng/ml.

La concentration plasmatique de cortisol était mesurée par chimiluminescence. La limite de détection était de 5,5 nmol/L. Les valeurs de référence s'étendaient de 138 à 690 nmol/L.

La concentration plasmatique de GH était dosée par immunoradiométrie (IRMA) (hGH RIACT, Cis Bio international, Gif sur Yvette - France). La limite de détection était de 0,1 ng/ml. Les valeurs de références s'étendaient de 0,1 à 9,4 ng/ml. Les CV intra et inter -séries

étaient respectivement de 0.7, 1.5 et 1.3% à 7.3, 13.6 et 56.0 mUI/L et de 13.4, 14.0 et 13.1% à 6.5, 12.1 et 51.4 mUI/L.

La concentration plasmatique d'IGF1 était dosée par radioimmunologie (RIA) après séparation des IGFBP (IGF1 extraction Nichols institute). La limite de détection était de 0,01 ng/ml. Les valeurs de références s'étendaient de 0 à 9.4 ng/ml Les coefficients de variation intra-séries étaient respectivement de 5.92 % et 4.07 % à 267 et 352 µg/L. Le coefficient de variation inter-séries moyen à 5,1%.

La concentration plasmatique d'IGFBP3 était dosée par RIA (Diagnostic System Laboratory Inc, Webster – Texas, USA). La limite de détection du dosage est de 0.25 µg/ml. Les CV intra et inter -séries étaient respectivement de 8.0, 3.4 et 3.8% à 0.56, 1.72 et 3.08 µg/ml et de 5.3 et 6.3% à 0.6 et 1.69 µg/ml.

### **Analyses statistiques**

Les données sont présentées en moyenne  $\pm$  DS. Etant donné la faiblesse des effectifs, les moyennes ont été comparées à l'aide de tests non paramétriques. Le logiciel SPSS pour Windows version 12.0 a été utilisé. L'hypothèse nulle était rejetée lorsque le seuil de significativité était inférieur à 5% ( $p < 0,05$ ).

## **Résultats**

### **Etude 1**

L'évolution des données métaboliques durant l'effort sont décrites dans le tableau III.

A T10, T20, T30, T40, la  $VO_2$  moyennée obtenue correspondait respectivement à 51, 58, 58 et 60% de la  $VO_2$  max, soit 6.5, 7.4, 7.5 et 7.7 fois la  $VO_2$  de repos (valeurs non montrées). Cette évolution témoigne de la stabilisation de la dépense énergétique à partir de T20. L'état métabolique n'apparaît pas aussi stable puisque la glycémie tend à diminuer et que la lactatémie croît à partir de T20 (tableau IV). Elle se situe à des valeurs élevées puisque la lactatémie observée en fin de protocole est proche de celles observée à SL2 durant des épreuves exhaustives de type triangulaire.

L'évolution des paramètres métaboliques et hormonaux est donnée dans le tableau IV et la figure n°3. L'effet de l'effort sur les concentrations plasmatiques est net pour l'insuline (diminution avec un rebond précoce à l'arrêt de l'effort) et pour le cortisol (augmentation y compris en récupération précoce). Inversement, la concentration plasmatique d'IGF1 est peu influencée par l'effort. Il existe une diminution de sa concentration entre T20 et T40 avec un effet rebond en récupération, (+12.6% par rapport à la valeur basale) à la limite de la significativité.

**Tableau III: Evolution des paramètres énergétiques durant l'épreuve de SWEET 45**

	T10	T20	T30	T40	Anova (p)
VO2 (l/min)	1,7 (0,50)#	2,0 (0,5)	2,0 (0,5)	2,1 (0,6)	< 0,05
Quotient respiratoire	0,95 (0,07)	0,92 (0,03)	0,93 (0,02)	0,90 (0,03)	<0,12
Dépense énergétique (Kcal/min)	9,68 (2,9)##	10,9 (3,0)	10,6 (2,9)	10,9 (2,9)	<0,05
Oxydation glucidique (Kcal/min)	8,3 (3,4)	9,7 (3,1)	9,1 (2,9)	9,1 (2,8)	<0,10

Valeurs exprimées en moyenne (DS)

Post hoc : # T10 significativement différent de T20, T30 et T40  $p < 0,03$ .

## T10 significativement différent de T20 et T 40  $p < 0,03$

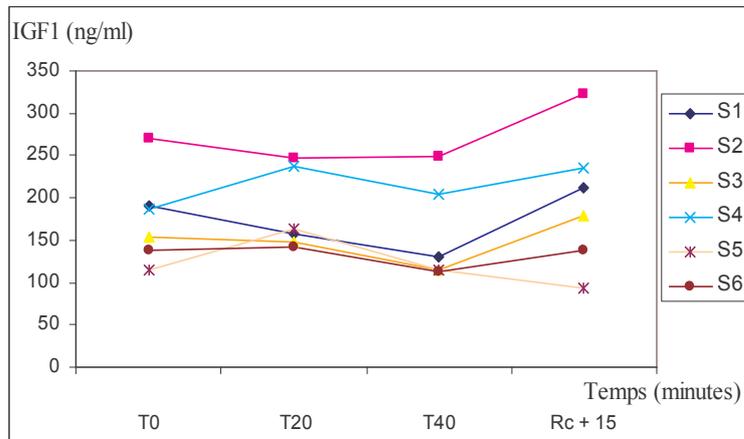
**Tableau IV : Evolution des paramètres métaboliques durant l'épreuve de SWEET 45**

	T0	T20	T40	R15	Anova (p)té
Lactate (mmol/L)	2,76 (2,6)	4,44 (1,21)	5,92 (3,80)	2,07 (0,95)	< 0.01
Glycémie (mmol/L)	4,92 (0,67)	3,97 (0,61)	3,85 (0,59)	4,60 (0,70)	< 0.01
IGF 1 (ng/ml)	175 (55)	183 (47)	154 (58)	197 (80)	< 0.06 (NS)°
Cortisol (moles/L)	277 (82)	377 (176)	411 (112)	439 (170)	< 0.01
Insuline ( $\mu$ UI/ml)	11,0 (11,3)a,b	2,48 (2,45)	1,3 (1,29)	6,67 (7,59)	< 0.01

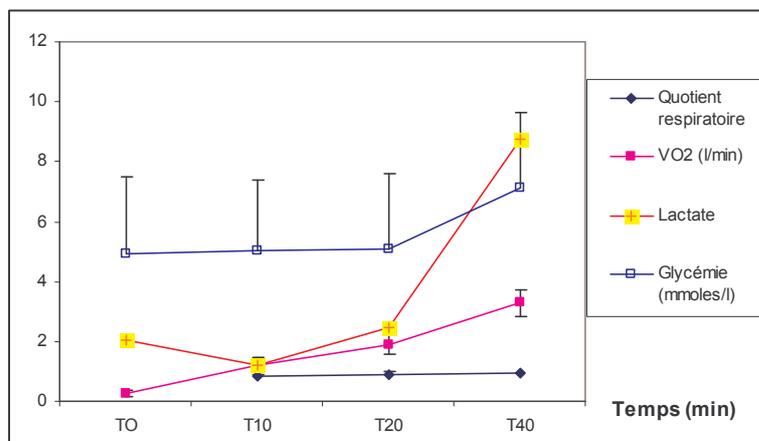
Valeurs exprimées en moyenne (DS)

NS non significatif

L'étude des corrélations durant l'effort entre l'IGF1 et l'insulinémie ( $r = 0.06$ ) ou l'IGF1 et la lactatémie ( $r = 0.24$ ) n'a pas montré de liaison statistiquement significative. Il existait une corrélation positive entre la concentration plasmatique d'IGF1 et celle du cortisol durant l'effort ( $r = 0.6$  ;  $p < 0,01$ ) ou en incluant la récupération ( $r = 0.67$ ,  $p < 0,01$ ).

**Figure N°3 : Evolution individuelle du taux sérique d'IGF1****Etude 2**

L'évolution des données métaboliques durant l'effort sont décrites dans la figure n°4.

**Figure N°4 : Evolution des paramètres énergétiques et métaboliques (quotient respiratoire, VO<sub>2</sub>, lactate, glycémie) durant l'épreuve d'effort**

L'ensemble des données montre que l'effort musculaire a bien été d'intensité croissante. L'analyse de la courbe de lactate révèle que le premier palier a été réalisé au-dessous de SL1 (diminution de la concentration d'acide lactique) que le second palier était d'intensité modérée et que le troisième palier correspondait à un effort intense.

La variation des paramètres hormonaux (Cortisol, C peptide, GH, IGF1, IGFBP3, insuline) est donnée dans le tableau V et celle de la GH dans la figure n°6. Pour les paliers d'intensité faible et modérée, l'effet de l'effort est faible sur l'ensemble des paramètres étudiés. Il existe une diminution de la concentration des peptides pancréatiques, la glycémie ne variant pas. La lactatémie augmente légèrement signifiant que l'intensité moyenne réalisée est légèrement au-

dessus du seuil lactique (SL1). Le cortisol plasmatique tend à diminuer (environ 10%) par contre la concentration de GH plasmatique augmente sensiblement dès le deuxième palier.

A l'inverse, les perturbations hormonales et métaboliques sont nettes pour le palier effectué à forte intensité (entre T20 et T40). Elles s'accompagnent d'un accroissement exponentiel de la concentration plasmatique de GH (figure n°5) ainsi que d'une augmentation de la glycémie et des concentrations plasmatiques d'insuline, de peptide C et de cortisol.

Il n'a pas été mis en évidence de différences statistiquement significatives pour les concentrations d'IGF1 et d'IGFBP3.

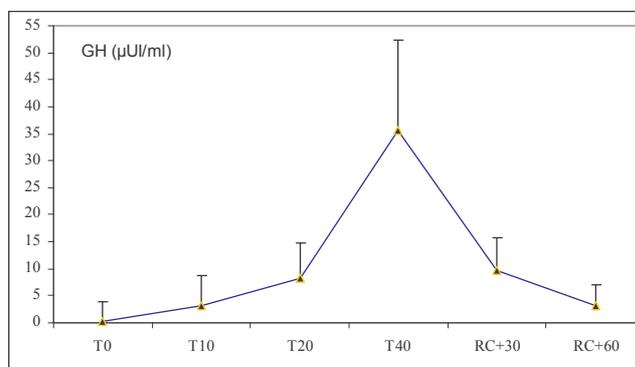
**Tableau V : Evolution des paramètres métaboliques et hormonaux au cours d'une série d'épreuves sous-maximales prolongées**

	T0	T10	T20	T40	R30	R60
Glycémie (mmol/L)	4,9 (2,6)	5,0 (2,4)	5,1 (2,5)	7,1 (2,5)	5,1 (2,6)	4,6 (2,6)
Lactate (mmol/L)	2,1 (3,3)	1,2 (3,5)	2,5 (3,3)	8,8 (3,9)	2,3 (3,3)	1,5 (3,4)
GH ( $\mu$ UI/ml)	0,2 (3,7)	3,1 (5,6)	8,2 (6,6)	35,6 (16,7)	9,6 (6,1)	3,1 (4,0)
Insuline ( $\mu$ UI/ml)	2,6 (3,5)	1,7 (3,5)	2,3 (3,4)	5,5 (3,9)	6,5 (8,4)	2,6 (3,5)
C peptide (ng/ml)	1,5 (3,5)	1,3 (3,5)	1,3 (3,5)	2,1 (3,2)	2,2 (3,5)	1,4 (3,3)
Cortisol (nmol/L)	474 (148)	466 (128)	431 (138)	522 (194)	531 (214)	460 (150)
IGF1 (ng/ml)	228 (95)	ND	ND	245 (101)	ND	ND
				228 (95)*		
IGFBP3 (mg/ml)	4,3 (1,2)	ND	ND	4,4 (1,7)	ND	ND
				4,1 (1,1)*		

ND : Non déterminée

\* : Valeurs obtenues après correction de la variation du volume plasmatique (585)

**Figure n°5 : Evolution de la concentration plasmatique de GH**



## Discussion

Les 2 études que nous avons réalisées chez des volontaires sains jeunes (peu ou pas entraînés) ont montré l'impact énergétique, hormonal et métabolique que pouvait exercer un effort musculaire prolongé à des intensités variables. Pour l'étude 1 (SWEET 45), il s'agissait d'un effort prolongé dont l'intensité moyenne était modérée puisqu'elle correspondait à une intensité moyenne d'environ 60% de la  $VO_2$  max qui se situant au dessus du seuil lactique (SL1). L'effort réalisé au cours de l'étude 2 peut être considéré comme 3 épreuves différentes continues réalisées à des intensités différentes. Les effets mesurés étaient globalement représentatifs des effets métaboliques et hormonaux exercés par chaque intensité (comme l'indique l'évolution de la lactatémie) même si on ne peut totalement exclure un effet additif partiel de l'effort musculaire réalisé au palier précédent étant donnée l'inertie de certaines sécrétions hormonales.

Les effets de l'effort musculaire de l'étude 1 sur la glycémie et sur la sécrétion de cortisol et d'insuline sont conformes à ceux observés dans la littérature (40, 586). De même, les modifications de ces mêmes paramètres observées durant l'étude 2, ont également été décrits lors d'un protocole similaire (587, 588), en particulier l'augmentation de la glycémie et de la concentration plasmatique d'insuline pour des efforts intenses (588). Cette augmentation de la glycémie serait la conséquence d'un effet catécholaminergique limitant la captation musculaire du glucose durant les efforts intenses, puisque le blocage alpha et bêta adrénergique empêche l'apparition de ce phénomène (589).

#### ***Effets sur la sécrétion de GH :***

Les données du tableau V et de la figure n°5 montrent que l'exercice intense, comme toute condition stressante, est un puissant stimulant de la sécrétion de GH équivalent, pour certains (388), aux effets provoqués par une hypoglycémie insulinaire. Ces résultats sont en accord avec ceux de la littérature (40, 387, 388). Cet effet qui est globalement proportionnel à l'intensité, apparaît dès le premier palier alors que la lactatémie diminue. Ces données confirment les travaux de Pritzlaff et al. (387) qui ont mis en évidence une augmentation de la sécrétion de GH pour des efforts minimes. Il semble donc qu'il n'y ait pas de « seuil GH » comme l'avaient suggéré antérieurement plusieurs auteurs (404, 590). De plus, l'absence d'augmentation de la lactatémie durant ce palier souligne que ce métabolite ne contrôle pas directement la production hypophysaire de GH durant l'effort (406). Enfin la glycémie ne semble pas non plus un élément stimulant de la sécrétion de GH puisqu'elle reste constante voire augmente en fin de protocole, alors que l'hyperglycémie a un rôle freinateur sur la sécrétion de GH au repos (176).

#### ***Effets sur la concentration plasmatique d'IGF1 et d'IGFBP3 :***

Les données de l'étude 1 montrent une tendance à la diminution de l'IGF1 à 40 minutes de 12% (tableau IV) pour un effort prolongé et modérément intense. Cette observation est opposée à la plupart de celles des études effectuées au moyen d'efforts similaires qui n'ont pas montré de variation de la concentration plasmatique d'IGF1 à l'arrêt de l'effort (39, 438, 441). Seules 2 études, celle de Nemet et al. (283) après un entraînement de 90 minutes chez des lutteurs et de Nguyen et al. (440) après une épreuve de ski nordique de 3 heures, ont observé respectivement une diminution de 11,2 et 14,6% de la concentration plasmatique d'IGF1. Nous avons observé des variations d'amplitude comparable. Elle aurait vraisemblablement été supérieure si nous avions pu estimer l'importance de l'hémoconcentration provoquée par ce type d'effort (447, 591). L'augmentation de la clairance métabolique de l'IGF1 due en particulier à la protéolyse d'IGFBP3 (260) et/ou la diminution du relargage musculaire (ou hépatique) pourraient également expliquer cette diminution. Les résultats mettent également en évidence un effet rebond à 15 minutes de récupération (augmentation de 28% de la concentration d'IGF1 à R+15 par rapport à T 40). Cette augmentation en post effort a également été décrite lors d'un effort prolongé d'intensité croissante sur tapis roulant (439). Il ne peut s'agir d'une augmentation de la synthèse hépatique de l'IGF1 puisque les modifications transcriptionnelles induites par l'augmentation de la concentration plasmatique de GH nécessitent un délai de plusieurs heures GH (260). L'hypothèse d'un relargage musculaire (448) ou hépatique précoce ou de la modification des circulations locorégionales réduisant le volume de distribution de l'IGF1 [revue in (592)] pourrait également être retenue.

Contrastant avec l'étude 1, le protocole utilisé au cours de l'étude 2 (intensité croissante) a entraîné de modifications significatives de la concentration plasmatique d'IGF1 (ni d'IGFBP3) qu'il y ait ou non correction en fonction des valeurs d'hémoglobine (Tableau V). Une augmentation modérée de la concentration plasmatique d'IGF1 a cependant été observée dans la littérature pour des efforts intenses ou supraliminaires (+13.4% (260), +20% (103), + 11.9% (262), + 11.9% (440) avec une variation du même ordre de grandeur et de même sens de la concentration plasmatique d'IGFBP3 (103, 262, 440). Inversement d'autres (444, 593) n'ont pas mis en évidence d'augmentation de la concentration plasmatique de ces paramètres pour des efforts très intenses quel que soit l'ergomètre utilisé.

Les résultats de nos études suggèrent donc que l'effort musculaire modifie peu les concentrations plasmatiques d'IGF1 et d'IGFBP3. Cette constatation entraîne 2 remarques :

(i) Ces variations sont du même ordre de grandeur que celle du volume plasmatique observées lors d'un effort court et intense ou prolongé [revue in (592)]. Pour des variations de

faible amplitude (<20%), il est donc impossible de dissocier celles qui relèvent du retentissement de l'effort musculaire de celle qui sont liées aux modifications du volume plasmatique ou du nombre de globules rouges (593), d'autant plus que les méthodes de corrections utilisées (hémoglobine/hématocrite, albuminémie ou protéine totale) ne permettent pas d'apprécier précisément ces modifications (447). Ainsi, l'augmentation de la concentration plasmatique mise en évidence par Dall et al. (593) à l'arrêt de l'effort disparaissait après correction des valeurs avec l'albumine. Schwarz et al. (260) et Wallace et al. (103) n'ont pas utilisé de correction puisqu'ils avaient seulement mesuré l'hématocrite. Inversement, Nemet et al. (283) ont mis en évidence une diminution de la concentration plasmatique d'IGF1 après avoir corrigé les valeurs en fonction de l'albuminémie.

(ii) Ces différences sont également du même ordre de grandeur que les variations intéressantes des kits de dosage, donc inhérentes à la reproductibilité des kits de dosage utilisés. Ainsi, il est d'autant plus difficile de conclure que les effectifs de nos études sont faibles.

(iii) Ces modifications sont-elles capables d'entraîner un effet physiologique significatif ? La diminution de la concentration plasmatique d'IGF1 observée pour un effort modérément intense et prolongé (SWEET 45), pourrait limiter les effets hypoglycémisants de l'IGF1. Nos sujets qui étaient peu entraînés, présentaient en effet une glycémie basse comme cela a été décrit (131, 594). Inversement l'augmentation de l'IGF1 à la fin ou à la récupération d'un effort intense pourrait exercer un effet hypoglycémiant accessoire à celui de l'insuline (reconstitution des stocks glycogéniques), en réaction à une augmentation de la glycémie (tableau V).

En pratique, si les paramètres du complexe ternaire sont utilisés pour dépister l'abus de GH chez les sportifs et le moment du prélèvement apparaissent importants dans la mesure où les valeurs post effort augmentent, les biais d'interprétation, soit en sous-estimant la valeur (efforts prolongés) soit en la surestimant (efforts intenses et brefs).

Ainsi, il est préférable d'utiliser ces prélèvements avant une compétition comme cela est réalisé dans le dépistage de l'abus d'érythropoïétine. De toute façon, même si la GH était utilisée durant les compétitions, ce qui est peu vraisemblable compte tenu de l'absence d'effets ergogènes démontrés (595), le délai serait insuffisant pour qu'elle entraîne une augmentation des transcrits hépatiques d'IGF1 sauf si les épreuves durent plusieurs heures.

### **Conclusion :**

L'effort musculaire modifie la concentration plasmatique d'IGF1 et d'IGFBP3 dans de faibles proportions. Ces modifications ne correspondent pas à une augmentation de leur synthèse hépatique. Cependant, dans l'optique du dépistage indirect de l'abus de GH et pour éviter

toute erreur d'interprétation, le dosage de ces paramètres avant une compétition paraît préférable. Ces dosages posent alors la problématique de leur interprétation en fonction des effets de la pratique sportive intensive sur la fonction basale de l'axe somatotrope.

## **Troisième partie : Conclusions et perspectives**

## 17 Conclusions

Dans le but de réduire les risques liés à la pratique intensive du sport, le code de santé publique français a été modifié et prévoit notamment une surveillance médicale pluriannuelle pour les sportifs de haut niveau et des filières d'accès au haut niveau. Cette surveillance se compose en particulier d'éléments biologiques évaluant l'érythropoïèse, le métabolisme du fer, ainsi que certains axes hormonaux (HHS, gonadotrope et somatotrope).

Ce choix s'est appuyé, entre autres, sur les différentes enquêtes et données de la littérature qui suggéraient que la pratique du sport de haut niveau était associée plus fréquemment à des conduites à risques dont le dopage et les troubles du comportement alimentaire.

Les axes HHS, gonadotrope et somatotrope étant non seulement sensibles à l'administration de dérivés hormonaux - qui peuvent être utilisés à des fins de dopage (par exemple GC, stéroïdes anabolisants, hormone de croissance) - mais également au déficit calorique, le dosage de paramètres permettant l'évaluation du statut hormonal apparaissait donc pertinent dans l'objectif de repérer et de réduire ces conduites à risques.

Les sportifs de haut niveau ayant été peu étudiés, nous avons donc décidé d'utiliser les résultats issus du suivi médical réglementaire (après obtention de l'accord des sportifs) pour analyser le retentissement chronique de la pratique intensive du Sport sur la fonction HHS, somatotrope et le remodelage osseux et, dans quelle mesure, un éventuel retentissement pouvait représenter un risque pour la santé de ces sportifs. Notre objectif était également de vérifier si la modification de certains paramètres de l'axe somatotrope et du remodelage osseux était prédictive de l'usage détourné de l'hormone de croissance ou de peptides sécrétagogues et si la modification de la cortisolémie pouvait être utile pour apprécier le retentissement de l'usage de glucocorticoïdes.

### **Effets associés à la pratique intensive du sport sur l'axe HHS**

Nous avons d'abord étudié la fonction corticotrope de repos de la population cycliste élite française à l'aide du dosage du cortisol plasmatique basal. Une fois l'état des lieux réalisé, l'objectif secondaire était d'évaluer la pertinence de ce dosage dans un cadre réglementaire pour repérer un détournement d'usage des GC, ainsi qu'un problème de santé lié à leur utilisation. Un premier travail (Cf. « risk of adrenal insufficiency in elite cyclists ») a permis les constatations suivantes :

- **La découverte d'un cortisol plasmatique bas** (inférieur aux valeurs de référence du kit de dosage) est presque constamment associée à l'administration préalable de GC de

synthèse qu'elle soit prescrite ou détournée à des fins de dopage. Cet aspect biologique traduit l'importance de la freination de l'axe corticotrope par effet de rétroinhibition des GC.

- **L'exploration dynamique de la fonction surrénalienne (test au synacthène 250 µg)** a mis en évidence une fréquence élevée d'insuffisances surrénaliennes frustes chez les cyclistes qui avaient un cortisol plasmatique bas mais aussi chez certains cyclistes qui avaient un cortisol dans les limites de référence du dosage et qui étaient sous GC. Ces données sont conformes à celles de la littérature qui ont montré que, chez des patients à risque, le cortisol plasmatique basal était inversement corrélé à celui d'insuffisance surrénalienne. Il semble que ce risque puisse être exclu au-delà d'une valeur de 500 nmol/L (ou moyenne + 1 DS). D'autre part, il est vraisemblable qu'un délai plus court entre le moment du dosage du cortisol plasmatique et l'exploration dynamique de la fonction surrénalienne aurait permis de constater un nombre supérieur d'insuffisances surrénaliennes. Ce chiffre aurait été probablement supérieur si nous avions utilisé un test au synacthène plus sensible (1 µg) et si le prélèvement effectué à titre réglementaire avait été plus proche de la prise de GC.
- **L'utilisation de glucocorticoïdes est fréquente** en milieu cycliste, particulièrement dans les disciplines d'endurance et chez les professionnels. De façon surprenante, l'enquête réalisée à partir d'auto-questionnaires a mis en évidence que deux molécules de synthèse - la triamcinolone et la bêtaméthasone - étaient fréquemment utilisées, alors qu'elles ne correspondent pas toujours aux recommandations consensuelles de prescription. Il faut noter que ces molécules sont disponibles sous plusieurs voies d'administrations (inhalation, cutanée, intramusculaire et infiltration locale). Il est donc possible qu'elles aient pu faire l'objet d'un détournement d'usage, le code mondial antidopage<sup>25</sup> autorisant les formes à administration locale.

Un deuxième travail effectué chez des sportifs de loisirs en bonne santé (Cf. article « High risk of adrenal insufficiency after a single intra or periarticular infiltration of corticosteroids in Young healthy sportsmen ») a confirmé que la fréquence de survenue d'une insuffisance surrénalienne fruste au décours d'une infiltration locale de GC aux doses habituellement utilisées en pratique était élevée et précoce. La freination de l'axe hypothalamo-hypophysaire se

<sup>25</sup> En 2005, le code mondial antidopage interdit l'usage des glucocorticoïdes en compétition. Cependant, il autorise les formes cutanées et, pour les autres voies locales, demande une déclaration préalable sous forme d'autorisation d'utilisation thérapeutique abrégée.

prolongeait jusqu'à la fin de la deuxième semaine. Cet effet, qui semble dose-dépendant, est la conséquence d'un passage systémique par voie transsynoviale ou locale.

Les résultats de ces deux études suscitent plusieurs réflexions :

(i) Une insuffisance surrénalienne fruste est fréquemment observée au décours de l'administration, même locale, de GC chez des adultes jeunes sportifs ou des cyclistes élités qui sont, de surcroît, en excellente condition physique. Cet aspect biologique ne signifie pas la survenue d'une insuffisance surrénalienne aiguë, complication au pronostic parfois sévère, dont l'incidence a été peu évaluée dans la littérature. Seuls Todd et al. (115) ont montré qu'elle était sous évaluée chez des sujets asthmatiques traités par corticoïdes inhalés, dont un certain nombre se présentait sous formes trompeuses (hypoglycémie). Ainsi, les sportifs qui ont une insuffisance surrénalienne biologique et qui sont exposés plus fréquemment à des infections ou traumatismes sévères pouvant nécessiter une intervention chirurgicale ont des risques importants de développer une insuffisance surrénalienne aiguë. Il est probable que certaines manifestations d'hypoglycémie, de « fringale » ou de contre-performance inexplicables puissent être des formes mineures d'insuffisance surrénalienne aiguë.

(ii) Etant donné que les effets systémiques des GC sont fréquents quel que soit leur mode d'administration, les dispositions du code mondial antidopage qui autorisent leur utilisation sous forme locale en compétition<sup>26</sup> n'apparaissent pas justifiées si elles ont pour objectif de prévenir les effets secondaires ou leur détournement d'usage à des fins de dopage. Cette remarque nous paraît particulièrement pertinente pour les infiltrations locales pour lequel le passage systémique est important.

(iii) L'importance de l'utilisation des GC chez les cyclistes élite pose à nouveau le problème du détournement d'usage de ces substances à des fins de dopage. Bien qu'aucun effet ergogène ne soit démontré, il est vraisemblable que les propriétés anti-inflammatoires et psycho-actives des GC favorisent leur utilisation. Le fait que 2 molécules (bêtaméthasone et triamcinolone) soient utilisées plus fréquemment, alors qu'elles ne correspondent pas toujours aux recommandations professionnelles, renforce cette hypothèse. Concernant les aspects de santé publique, des études prospectives sont nécessaires pour évaluer le retentissement psychopathologique (pharmacodépendance), osseux (ostéoporose) et cardiovasculaire (risque coronarien et troubles de la régulation de la glycémie) de l'utilisation chronique des GC dans les disciplines sportives exposées. Un effort pour sensibiliser les prescripteurs à ne pas banaliser l'usage des corticoïdes est également souhaitable.

---

<sup>26</sup> sous couvert d'une autorisation d'utilisation thérapeutique

**En pratique :**

Deux types de recommandations peuvent être proposées, l'une concernant l'interprétation d'un cortisol plasmatique chez un sportif et la conduite à tenir qui en découle, l'autre sur l'attitude à adopter chez un sportif bénéficiant d'un traitement par glucocorticoïdes avec fort passage systémique (infiltration ou voie orale ou intramusculaire).

**Interprétation du dosage du cortisol plasmatique chez un sportif en fonction de l'éventualité de la prise de glucocorticoïdes**

	Absence de corticothérapie	Corticothérapie
<b>Cortisol bas (&lt; valeur de référence du kit ou moyenne – 2DS)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Insuffisance surrénalienne hautement probable (prise de corticoïdes vraisemblable)</li> <li>• Arrêt de la pratique sportive</li> <li>• Adresser en milieu endocrinologique pour évaluation de la fonction surrénalienne (test synacthène 1 µg)</li> </ul>	
<b>Cortisol normal</b>	Ne rien faire	Contrôler le cortisol si cortisol < 500 nmol/L (ou < moyenne + 1 DS) ou si cortisol proche – 2DS faire test synacthène
<b>Cortisol élevé (&gt;valeur de références du kit ou moyenne + 2DS)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Contrôle cortisol dans un délai bref pour éliminer un cortisol faussement haut (prise de GC de synthèse croisant avec le kit)</li> <li>• Cf. conduite à tenir cortisol élevé</li> </ul>	

**Sportif bénéficiant d'une corticothérapie pour lequel le passage voie systémique est théoriquement important :** Etant donné que l'utilisation des GC chez le sportif correspond le plus souvent à un traitement de confort et pour éviter l'interruption de la pratique sportive, prendre le risque de survenue d'une insuffisance surrénalienne aiguë paraît disproportionné chez ces sujets sains, d'autant plus que leur efficacité réelle dans certaines indications (infiltrations) n'est pas clairement démontré. Il est donc essentiel, une fois la prescription établie, d'informer le sujet sur le risque encouru d'insuffisance surrénalienne ainsi que sur les signes d'alerte qui doivent l'amener à consulter sans délai. Concernant la poursuite de la pratique sportive, il nous semble que l'attitude à adopter dépend du risque provoqué par la pratique de la discipline sportive elle-même. Ainsi, on pourra interdire l'accès à la compétition à des sportifs qui pratiquent une discipline à haut risque traumatique, infectieux ou qui est réalisée dans des conditions extrêmes (hypoxie). Inversement, une pratique de loisir pourra être autorisée, sachant que le repos sportif est indispensable à la réussite d'un geste thérapeutique local ou à la sédation de symptômes. Un délai d'une à deux semaines paraît

souhaitable sachant que le risque d'insuffisance surrénalienne semble faible au-delà de 2 semaines.

Dans le respect de la réglementation antidopage, il convient de prévenir le sportif (s'il est compétiteur) qu'en cas de contrôle antidopage il doit présenter l'ordonnance au médecin préleveur. Le prescripteur évitera les GC à demi-vie ou à libération prolongées et veillera à laisser un délai suffisant entre la dernière absorption (ou le geste local) et la compétition. Un délai d'une à deux semaines paraît là encore souhaitable, permettant de s'assurer de la guérison et de l'absence de signes patents d'insuffisance surrénalienne.

Dans l'étude suivante, (Cf. article «Intérêts du dosage du cortisol plasmatique chez le cycliste élite») nous avons analysé l'effet de la pratique intensive du cyclisme sur la concentration plasmatique du cortisol. Ce travail a permis de constater que :

- Il existait un pourcentage de valeurs élevées (> 2DS) du cortisol plasmatique
- Le cortisol plasmatique augmentait durant la saison sportive et diminuait lorsque cette activité était interrompue ou réduite.
- Ces variations étaient de faible amplitude (environ 10 %) et étaient influencées par l'intensité de la pratique cycliste. Le cortisol plasmatique était plus bas chez les amateurs que chez les professionnels.
- Le fait d'avoir réalisé une compétition les jours (moins d'une semaine) qui précédaient le prélèvement, ne modifiait pas les valeurs de cortisol plasmatique, suggérant que l'élévation de la cortisolémie est un phénomène qui a une inertie supérieure à une semaine.

Ces constatations montrent que la pratique intensive du Cyclisme modifie la fonction de l'axe HHS au repos. Ces modifications dont l'amplitude reste faible, pourraient être la résultante (éventuellement combinée) de :

- La diminution de la clairance métabolique du cortisol
- D'un déficit global de la balance énergétique ou qualitatif associé ou non à un trouble du comportement alimentaire.
- De modifications de la composition corporelle (diminution de la masse grasse) qui augmentent la CBG, entraînant une augmentation du cortisol plasmatique total.
- De l'utilisation de glucocorticoïdes de synthèse reconnus par le kit de dosage ou de l'administration d'ACTH juste avant le prélèvement.

- D'une hyperoestrogénie (grossesse, contraception orale à base d'oestrogènes) ou de l'utilisation de modulateurs sélectifs des récepteurs oestrogéniques destinés à palier les effets secondaires de l'administration de stéroïdes anabolisants

Des études complémentaires, chez l'animal comme chez l'homme qui contrôlent ces facteurs de variation sont nécessaires pour les mécanismes physiologiques ou physiopathologiques de ces altérations. En effet, la constatation d'un cortisol élevé ne signifie pas qu'il existe un hypercorticisme qui pourrait entraîner des conséquences sur l'organisme (hypertension artérielle, diminution de la masse osseuse).

**En pratique :** Concernant les valeurs de cortisol plasmatique élevé (> 2DS), nous proposons donc la conduite à tenir suivante :

1. Chez la femme, il faut éliminer une augmentation de la CBG due à une hyperoestrogénie (pilule contraceptive, grossesse)
2. Contrôle cortisol plasmatique basal sous 8 jours avec dosage plasmatique de la SDHEA et ACTH
  - a. Ensemble des paramètres normaux : variation aiguë (effets d'une compétition proche, stimulation pharmacologique transitoire des surrénales, prise associée de GC de synthèse croisant avec le kit).
  - b. Cortisol et/ou SDHEA bas : Elle signifie une probable prise antérieure de GC avec possibilité d'insuffisance surrénalienne (pour la conduite à tenir Cf. cortisol bas).
  - c. Cortisol élevé : Le problème est d'éliminer un hypercorticisme tumoral. Dosage du cortisol libre urinaire des 24 heures et du cortisol plasmatique à 18 heures (idéalement 24 heures). S'il existe une augmentation de la sécrétion intégrée des 24 heures et/ou une perturbation du rythme circadien du cortisol, un avis endocrinologique avec tests de freination+/- stimulation de la fonction surrénalienne.

Le dosage de la CBG chez le sportif masculin est utile pour éliminer une augmentation artificielle (SERM) de cette protéine porteuse.

### **Retentissement de la pratique intensive du Sport sur l'axe somatotrope et le remodelage osseux**

Ce travail a été réalisé au sein d'une population sportive de haut niveau, pratiquant des disciplines diverses (sports d'endurance, de force vitesse, sports collectifs et à catégorie de poids). Les constats suivants ont été observés :

- Les concentrations plasmatiques moyennes observées sont globalement comparables à celles de la littérature et de sujets témoins. Cela signifie que les concentrations plasmatiques d'IGF1, d'IGFBP3, et à un moindre degré d'ALS, ou des marqueurs du remodelage osseux doivent normalement se situer dans les valeurs de référence des kits de dosage obtenues chez des sujets jeunes non sportifs.

Ainsi, l'interprétation de ces paramètres doit se faire, comme chez le sujet non sportif, en fonction de l'âge et du sexe. Ainsi, chez un sportif, toute valeur qui se situe hors des valeurs de référence du kit de dosage doit être considérée comme anormale et nécessite des investigations complémentaires.

- L'analyse des paramètres de dispersion (variance, valeurs extrêmes) objective cependant des différences par rapport aux valeurs observées chez les sujets contrôles, à savoir qu'il existe un pourcentage anormalement élevé de valeurs supérieures la moyenne + 2DS ou de valeurs inférieures à la moyenne - 2DS.
- Il existe un effet du type de pratique sportive, les sportifs d'endurance ayant des concentrations plasmatiques d'IGF1, d'insuline et du remodelage osseux plus basses que les sportifs de résistance. Cela témoigne vraisemblablement d'un profil énergétique bas. Inversement, ces résultats témoignent d'une moindre insulinosensibilité chez les sportifs qui pratiquent une discipline de résistance et expliquerait en partie pourquoi cette catégorie de sportifs développe plus de pathologie cardiovasculaire que les sportifs d'endurance (3).
- Par ailleurs, le rapport IGF1/IGFBP3 des sportifs d'endurance est inférieur à celui des sportifs de résistance, les valeurs d'IGFBP3 se situant dans la zone supérieure des valeurs attendues chez des non sportifs. Cet aspect biologique pourrait expliquer pourquoi il existe une diminution de certains cancers chez les sujets qui pratiquent un sport d'endurance, puisqu'une diminution du risque de cancer (sein, prostate) a été constaté chez les sujets qui avaient des valeurs d'IGFBP3 situées dans le quartile ou quintile supérieur (Cf. chapitre 4, § 4.5).
- L'ostéoformation est apparue plus altérée chez les cyclistes. Cet effet pourrait être la conséquence d'une utilisation plus importante des glucocorticoïdes.
- Les valeurs coefficients de variation intraindividuelle observés au cours d'une saison sont supérieures à celles de sujets non sportifs pour l'IGF1, l'ostéocalcine et le  $\beta$ CTX. Ainsi, l'activité physique exerce un impact (direct ou indirect) sur les paramètres biologiques.

Ainsi, le dosage des marqueurs de l'axe somatotrope et du remodelage osseux est utile dans la surveillance médicale réglementaire des sportifs de haut niveau. En première intention, le

dosage sérique de l'IGF1 et de l'ostéocalcine plasmatique nous semble pertinent, puisque ces paramètres sont sensibles aux variations associées à la pratique intensive du Sport.

Nous recommandons que ces dosages soient réalisés plusieurs fois par an, par le même laboratoire (à défaut avec le même kit et le même automate) de manière à pouvoir comparer ces valeurs et interpréter leur variation dans le temps. De plus, des prélèvements supplémentaires sont nécessaires pour constituer une sérothèque dans l'objectif d'effectuer des dosages complémentaires en cas d'anomalies ou d'effectuer un travail ultérieur de recherche. Au préalable, la conservation des échantillons de sang nécessite l'obtention du consentement éclairé des sportifs.

**En pratique,** devant un dosage anormal d'IGF1 nous proposons les conduites à tenir suivantes :

Anomalie	Etiologies possibles	Conduite à tenir
<b>IGF1 élevé</b> (valeur > moyenne + 2 DS ou augmentation de plus de 50% par rapport aux dosages précédent)	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Tumeur hypophysaire sécrétant de la GH</li> <li>✓ Dopage à la GH, aux sécrétagogues de la GH, au GHRH</li> <li>✓ Dopage aux stéroïdes anabolisants (testostérone)</li> <li>✓ Régime hyperprotidique ?</li> <li>✓ Sujets normaux : soit jeunes sportifs proches de la puberté ou se situant dans les 2,5% de la population normale</li> </ul>	<p><b>Adresser le sportif en milieu endocrinologique :</b></p> <p>Examen clinique Enquête alimentaire Recherche de produits dopants Contrôle IGF-1 basal Bilan lipidique</p> <p><b>Test de freinage HGPO</b></p> <p>Pas de freinage : éliminer une tumeur hypophysaire Freinage incomplet (compléter par dosage ALS, IGFBP3 et GH 20 kDa)</p>
<b>IGF1 bas</b> (valeur < moyenne - 2 DS)		<p>Enquête nutritionnelle Contrôle IGF1 basal</p>
<b>IGF1 bas</b> (valeur < moyenne - 2,5 DS ou diminution de plus de 50% par rapport au dosages précédent, ou contrôle anormal)	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Insuffisance somatotrope organique (adulte déficitaire)</li> <li>✓ Restriction protidique et/ou calorique, alimentation inadaptée à l'intensité de l'activité sportive</li> <li>✓ Infection ou inflammation associée.</li> <li>✓ Insuffisance somatotrope fonctionnelle induite par un entraînement trop intensif</li> <li>✓ Dopage : Bêta 2 mimétiques, SERM, glucocorticoïdes ?, certains stéroïdes anabolisants autres ?)</li> </ul>	<p><b>Adresser le sportif en milieu endocrinologique :</b></p> <p>Examen clinique Bilan nutritionnel alimentaire et recherche de TCA Recherche de médicaments ou produits dopants Bilan inflammatoire Contrôle IGF-1 basal GH basale + insuline + glycémie +/-IGFBP1,2,3 et ALS</p> <p><b>Si IGF1 bas persistant :</b></p> <p>Hypoglycémie insulinique Ostéodensitométrie osseuse</p>

Le travail suivant (Cf. chapitre 13) a analysé les relations entre la pratique intensive du Cyclisme féminin, le contenu minéral et le remodelage osseux et l'axe somatotrope. Il a permis d'objectiver :

- La fréquence élevée d'ostéopénie chez ces cyclistes, notamment chez celles qui pratiquaient les disciplines d'endurance
- Les données de la littérature, à savoir que la diminution de la DMO était observée chez les sportives qui avaient (eu) des épisodes d'aménorrhée
- Que les valeurs d'IGF1 étaient corrélées positivement avec celles de la DMO. Cela donne un argument sur le rôle de l'IGF1 endocrine sur le contrôle de la masse osseuse.
- Les sportives qui avaient un IGF1 bas présentaient également un profil énergétique bas, reflétant un déséquilibre vraisemblablement chronique de la balance énergétique, responsable des altérations hormonales.

Ces résultats renforcent les données expérimentales effectuées chez l'homme et l'animal, qui ont montré que le déséquilibre prolongé de la balance énergétique provoquent d'importantes modifications hormonales qui perturbent non seulement l'axe gonadotrope mais également l'axe somatotrope, la diminution vraisemblable de la concentration plasmatique de leptine (que nous n'avons pas dosée) joue probablement un rôle central. Ainsi, Le dosage de l'IGF1, qui est un marqueur nutritionnel sensible, apparaît donc très utile dans le suivi des sportifs et des sportives qui sont exposées à un déficit calorique (sports d'endurance, catégorie de poids légère et moyenne, disciplines « esthétique »).

**En pratique**, toute diminution prolongée de la concentration plasmatique d'IGF1, d'autant plus qu'elle est associée à des signes de restriction calorique (troubles restrictifs du comportement alimentaire, indice de masse corporelle faible, pourcentage de masse grasse bas (< 9% chez le sportif, 20% chez la sportive), aménorrhée ou ostéoformation diminuée) nécessite une mesure de la DMO. Cet examen doit être pratiqué indépendamment du sexe. Nous proposons, pour les disciplines à risques (sports d'endurance, forte incidence de corticothérapie, disciplines avec faibles impacts squelettiques) qu'une mesure de la DMO soit réalisée systématiquement à l'entrée de la carrière de haut niveau et qu'elle soit contrôlée à l'arrêt de la carrière.

Des études complémentaires incluant de plus grandes cohortes de sportifs dans les disciplines à risque sont nécessaires.

Enfin, deux expérimentations (Cf. chapitre 14) réalisées à l'effort prolongé chez des sujets sains ont analysé la réponse de l'axe somatotrope.

Ces études montrent que :

- Comme dans la littérature, la concentration plasmatique de la GH est dépendante et positivement corrélée à l'intensité de l'effort musculaire
- Les concentrations plasmatiques d'IGF1 et d'IGFBP3 varient peu avec l'effort et aurait tendance à diminuer dans les efforts prolongés lorsque la glycémie baisse.
- La correction des concentrations en fonction des variations du volume plasmatique suggère que les variations des concentrations plasmatiques au cours de l'effort sont principalement dues à des variations de volume plasmatique.

**En, pratique**, bien que les variations d'amplitude de l'IGF1 au cours de l'effort soient minimales, son dosage doit être réalisé à distance d'un effort pour que son interprétation puisse s'effectuer. Cette recommandation nous paraît d'autant plus importante si ce paramètre est utilisé pour dépister l'abus d'hormone de croissance. Il est donc préférable de doser l'IGF1 avant une compétition ou un entraînement.

### **18 Perspectives :**

L'ensemble des travaux que nous avons réalisés montre clairement que l'utilisation des paramètres sanguins pour dépister les conséquences de la pratique intensive du sport sur l'organisme est pertinente dans le suivi médical des sportifs de haut niveau. Il s'agit d'un outil qui permet de réduire les risques associés à la pratique intensive du Sport (dopage, troubles du comportement alimentaire). L'évolution de l'incidence de ces anomalies au cours des prochaines années permettra de juger l'efficacité de ce dispositif. Déjà, la diminution du pourcentage de cortisolémie basses observées chez les cyclistes entre 2001 et 2003 suggère son efficacité quand la constatation d'anomalies est associée à une attitude coercitive (en l'occurrence, contre-indication à la pratique du Cyclisme en compétition en raison du risque d'insuffisance surrénalienne). Cela suppose que les médecins fédéraux qui sont responsables de l'application du suivi médical des sportifs de haut niveau de leur fédération disposent d'outils réglementaires qui permettent de soustraire un sportif à la compétition

### **Dépistage indirect de l'utilisation de la GH**

Concernant le dépistage indirect du dopage qui repose sur l'utilisation d'un faisceau d'arguments indirects, son application n'est actuellement pas possible en raison de la

législation antidopage. En effet, seule la caractérisation d'une molécule dans un liquide biologique est retenue comme probante pour sanctionner un sportif. Ce décalage entre la preuve juridique et la preuve médicale bloque l'utilisation de ces paramètres notamment pour dépister l'abus de GH dans le cadre disciplinaire.

Cependant, à titre de précaution, il est possible de proposer un « no start », comme cela est actuellement réalisé pour l'abus d'EPO recombinante par l'Union Cycliste Internationale. Sa mise en œuvre pour l'abus de GH nécessite toutefois quelques précautions.

D'une part, l'utilisation de la variation de paramètres biologiques pour caractériser le dopage nécessite la création d'un « passeport biologique » (97) et donc la mise en place d'une logistique adaptée. Il faut donc créer une banque de données consultable depuis le site d'analyse, acquérir le même automate d'analyses et d'utiliser le même kit de dosage pour l'ensemble des laboratoires accrédités ou prévoir un système (à l'échelle planétaire pour le sport de haut niveau) qui permette l'acheminement des prélèvements sur un site d'analyse unique.

D'autre part, le moment du dosage paraît également important. En effet, celui-ci soit réalisé avant un effort (compétition) de façon à éviter les augmentations des concentrations plasmatiques de certains marqueurs (IGF1, IGFBP3 ...) provoqués par l'activité physique.

Par ailleurs, des études analysant le transcriptome, le protéome et le métabolome sont également une alternative de recherche pour mettre en évidence l'utilisation des produits dopants.

### **Utilisation des glucocorticoïdes**

Les dirigeants de l'agence mondiale antidopage (AMA) et de certaines fédérations internationales s'interrogent sur la nécessité de maintenir les glucocorticoïdes sur la liste des produits interdits. Compte tenu des preuves que ce travail a apporté sur la dangerosité de leur utilisation, leur autorisation apparaît comme une menace supplémentaire pour la santé publique, tant pour celle des sportifs que pour celle de la population générale, la prescription des GC étant banalisées par le public et les médecins.

Seul des arguments expérimentaux, qui font défaut actuellement, prouvant l'effet des GC sur la performance permettraient de maintenir ces produits sur la liste élaborée par l'AMA. Un ou plusieurs travaux de recherche sont donc indispensables dans de brefs délais.

### **Sport de haut niveau et dopage du « futur »**

Le développement des techniques de thérapie géniques étant déjà opérationnelles chez l'animal, il est vraisemblable qu'elles seront appliquées dans quelques années chez l'homme. Même si ces techniques sont destinées à améliorer le pronostic de patients atteints de maladies sévères, il est vraisemblable qu'elles seront détournées pour améliorer les performances des sportifs de haut niveau. Ainsi, la modification de l'expression de certains facteurs de croissance musculaire, tels que l'IGF1, qui entraînent une hyperplasie et une hypertrophie musculaire sera utilisée dans un bref délai (596). Ainsi, certains scientifiques qui ont mis au point ces méthodes n'hésitent pas à dire que les jeux olympiques de Pékin seront les derniers jeux « non génétiquement modifiés ».

En dehors des aspects scientifiques qui concernent la détection de ces techniques, il nous paraît essentiel que des réflexions éthiques se développent sur l'avenir de la pratique sportive de haut niveau, en particulier sur les valeurs que le Sport et l'Olympisme veulent vraiment véhiculer. En effet, la devise du comité international olympique « *citius, altius, fortius* » est une véritable incitation au dépassement de soi ? Ne faudrait-il pas la modifier afin de replacer symboliquement le sportif de haut niveau dans une dynamique humaniste plutôt que cybernétique.

Si cette dérive continue, il est vraisemblable que le sportif de haut niveau ne sera, dans quelques années, que l'instrument d'une compétition biotechnologique, signant ainsi la fin des « Jeux de la Modernité ».

### **Adaptations physiologiques et pratique intensive du Sport**

L'ensemble du travail que nous avons réalisé suggère que le déséquilibre nutritionnel et les pratiques de dopage permettent d'expliquer la plupart des variations hormonales. Toutefois, il est possible que la pratique intensive du sport, notamment dans les sports endurance en raison de la contrainte métabolique qu'elle représente, puisse en entraîner des adaptations (aiguës et/ou chroniques) des axes HHS et somatotropes. Des travaux ultérieurs qui permettent de contrôler les apports caloriques et les facteurs médicamenteux et qui explorent ces fonctions, sont donc nécessaires.

Par ailleurs, les travaux de la littérature ont montré que les modifications des concentrations plasmatiques des IGFBP (essentiellement IGFBP1) sont fortement impliquées dans le contrôle de la glycémie pendant et après l'effort. Nous avons constaté (comme d'autres) que la concentration d'IGFBP3 était plus élevée chez les sportifs d'endurance alors que celle d'IGF1 tendait à diminuer. Ainsi, il semblerait que l'augmentation d'IGFBP3 pourrait

représenter une adaptation à l'entraînement intensif et témoigner d'une amélioration de la sensibilité à l'IGF1 puisque les concentrations d'IGF1 libres doivent normalement être réduites. Des études ultérieures sont nécessaires pour en élucider le ou les mécanismes (indépendant de la GH ?), ainsi que leurs implications dans l'effet de l'activité physique sur la diminution des risques cardiovasculaires et de cancers.

Enfin, comme il existe pratiquement aucune donnée de la littérature traitant des modifications basales de l'axe somatotrope chez le sujet, des études sont également nécessaires pour vérifier s'il existe un impact du surentraînement sur les concentrations plasmatiques d'IGF1 et des IGFBP et si ces dosages peuvent apporter une aide pour diagnostiquer cet état d'épuisement.

## Références bibliographiques

1. **Vallier J** 1998 Groupe de consensus de la société française de médecine du Sport sur les épreuves d'effort. *Science & Sports* 13:194-201
2. **Choquet M, Bourdessol H, Arvers P, Guilbert P, De Péretti C** 1999 Jeunes, sports et conduites à risques. In: Ministère de la Jeunesse des Sports et de la Vie Associative (Ed). Ministère de la Jeunesse, des Sports et de la Vie Associative, Paris, p 153
3. **Sarna S, Sahi T, Koskenvuo M, Kaprio J** 1993 Increased life expectancy of world class male athletes. *Med Sci Sports Exerc* 25:237-44
4. **Michel G** 2001 Les dangers du sport. In: La prise de risque à l'adolescence Pratique sportive et usage de substances psycho-actives. Masson, Paris, pp 60-65
5. **Queval I** 2001 La culture sportive du dépassement de soi : entre santé et performance, quête du bien et quête du mieux. In: Lehénaff D (ed) La santé du sportifs de haut niveau, Les cahiers de l'INSEP ed, Paris, pp 49-59
6. **Adès J, Lejoyeux M** 2001 Les acharnés de l'exercice. In: Encore plus ! (Jeu, sexe, travail, argent). Odile Jacob, Paris, pp 124-136
7. **Miller TW, Adams JM, Kraus RF, et al.** 2001 Gambling as an addictive disorder among athletes: clinical issues in sports medicine. *Sports Med* 31:145-52
8. **Lowenstein W, Arvers P, Gouarrier L, Porche A-S, Cohen M** 2000 Activités physiques et sportives dans les antécédents de personnes prises en charge pour des addictions. *Annales de Médecine Interne* 151:A18-A26
9. **Sundgot-Borgen J** 1999 Eating disorders among male and female elite athletes. *Br J Sports Med* 33:434
10. **Byrne S, McLean N** 2002 Elite athletes: effects of the pressure to be thin. *J Sci Med Sport* 5:80-94
11. **Veale DM** 1991 Psychological aspects of staleness and dependence on exercise. *Int J Sports Med* 12 Suppl 1:S19-22
12. **Fry RW, Morton AR, Keast D** 1991 Overtraining in athletes. An update. *Sports Med* 12:32-65
13. **Drinkwater BL, Nilson K, Chesnut CH, 3rd, Bremner WJ, Shainholtz S, Southworth MB** 1984 Bone mineral content of amenorrheic and eumenorrheic athletes. *N Engl J Med* 311:277-81
14. **MacConnie SE, Barkan A, Lampman RM, Schork MA, Beitins IZ** 1986 Decreased hypothalamic gonadotropin-releasing hormone secretion in male marathon runners. *N Engl J Med* 315:411-7
15. **Deugnier Y, Loreal O, Carre F, et al.** 2002 Increased body iron stores in elite road cyclists. *Med Sci Sports Exerc* 34:876-80
16. **Lesesve JF, Guinot M, Andolfatto S, Bene MC, Dine G** 2000 Effect of elite cycling on leucocyte counts. *Br J Haematol* 110:1006-9
17. **Creighton DL, Morgan AL, Boardley D, Brolinson PG** 2001 Weight-bearing exercise and markers of bone turnover in female athletes. *J Appl Physiol* 90:565-70
18. **Mc Ardle W, Katch F, Katch V** 1996 In: Wilkins W (ed) Exercise physiology. Energy, nutrition, and human performance, 4th ed
19. **Costill DL, Thomason H, Roberts E** 1973 Fractional utilization of the aerobic capacity during distance running. *Med Sci Sports* 5:248-52
20. **Beaver WL, Lamarra N, Wasserman K** 1981 Breath-by-breath measurement of true alveolar gas exchange. *J Appl Physiol* 51:1662-75
21. **Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU** 2000 How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocr Rev* 21:55-89

22. **Rivier C, Rivier J, Vale W** 1986 Stress-induced inhibition of reproductive functions: role of endogenous corticotropin-releasing factor. *Science* 231:607-9
23. **Kuoppasalmi K, Naveri H, Harkonen M, Adlercreutz H** 1980 Plasma cortisol, androstenedione, testosterone and luteinizing hormone in running exercise of different intensities. *Scand J Clin Lab Invest* 40:403-9
24. **U.S. Department of Health and Human Services** 1996 Physical Activity and Health : A Report of the Surgeon General. US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Atlanta, GA
25. **World Health Organization** 1998 Obesity: preventing and managing the global epidemic. World Health Organization, Geneva, p 276
26. **Hansen BC** 1999 The metabolic syndrome X. *Ann N Y Acad Sci* 892:1-24
27. **Paffenbarger RS, Jr., Hyde RT, Wing AL, Hsieh CC** 1986 Physical activity, all-cause mortality, and longevity of college alumni. *N Engl J Med* 314:605-13
28. **Kesaniemi YK, Danforth E, Jr., Jensen MD, Kopelman PG, Lefebvre P, Reeder BA** 2001 Dose-response issues concerning physical activity and health: an evidence-based symposium. *Med Sci Sports Exerc* 33:S351-8
29. **Shephard RJ** 2001 Absolute versus relative intensity of physical activity in a dose-response context. *Med Sci Sports Exerc* 33:S400-18; discussion S419-20
30. **American College of Sports Medicine** 2001 Position Stand on the Appropriate Intervention Strategies for Weight Loss and Prevention of Weight Regain for Adults. *Med Sci Sports Exerc* 33:2145–2156
31. **Bouchard C** 2001 Physical activity and health: introduction to the dose-response symposium. *Med Sci Sports Exerc* 33:S347-50
32. **Levy WC, Cerqueira MD, Abrass IB, Schwartz RS, Stratton JR** 1993 Endurance exercise training augments diastolic filling at rest and during exercise in healthy young and older men. *Circulation* 88:116-26
33. **Tanaka H, Dinunno FA, Monahan KD, Clevenger CM, DeSouza CA, Seals DR** 2000 Aging, habitual exercise, and dynamic arterial compliance. *Circulation* 102:1270-5
34. **DeSouza CA, Shapiro LF, Clevenger CM, et al.** 2000 Regular aerobic exercise prevents and restores age-related declines in endothelium-dependent vasodilation in healthy men. *Circulation* 102:1351-7
35. **Denis C, Chatard JC, Dormois D, Linossier MT, Geysant A, Lacour JR** 1986 Effects of endurance training on capillary supply of human skeletal muscle on two age groups (20 and 60 years). *J Physiol (Paris)* 81:379-83
36. **Hoppeler H, Howald H, Conley K, et al.** 1985 Endurance training in humans: aerobic capacity and structure of skeletal muscle. *J Appl Physiol* 59:320-7
37. **Toth MJ, Beckett T, Poehlman ET** 1999 Physical activity and the progressive change in body composition with aging: current evidence and research issues. *Med Sci Sports Exerc* 31:S590-6
38. **Ross R, Freeman JA, Janssen I** 2000 Exercise alone is an effective strategy for reducing obesity and related comorbidities. *Exerc Sport Sci Rev* 28:165-70
39. **Manetta J, Brun JF, Maimoun L, Callis A, Prefaut C, Mercier J** 2002 Effect of training on the GH/IGF-I axis during exercise in middle-aged men: relationship to glucose homeostasis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 283:E929-36
40. **Bloom SR, Johnson RH, Park DM, Rennie MJ, Sulaiman WR** 1976 Differences in the metabolic and hormonal response to exercise between racing cyclists and untrained individuals. *J Physiol* 258:1-18

41. **Buono MJ, Yeager JE, Sucec AA** 1987 Effect of aerobic training on the plasma ACTH response to exercise. *J Appl Physiol* 63:2499-501
42. **Kjaer M, Bangsbo J, Lortie G, Galbo H** 1988 Hormonal response to exercise in humans: influence of hypoxia and physical training. *Am J Physiol* 254:R197-203
43. **Koivisto V, Hendler R, Nadel E, Felig P** 1982 Influence of physical training on the fuel-hormone response to prolonged low intensity exercise. *Metabolism* 31:192-7
44. **Duclos M, Gouarne C, Bonnemaïson D** 2003 Acute and chronic effects of exercise on tissue sensitivity to glucocorticoids. *J Appl Physiol* 94:869-75
45. **Wideman L, Weltman JY, Hartman ML, Veldhuis JD, Weltman A** 2002 Growth hormone release during acute and chronic aerobic and resistance exercise: recent findings. *Sports Med* 32:987-1004
46. **Kraemer WJ, Ratamess NA** 2005 Hormonal Responses and Adaptations to Resistance Exercise and Training. *Sports Med* 35:339-361
47. **Ma J, Pollak MN, Giovannucci E, et al.** 1999 Prospective study of colorectal cancer risk in men and plasma levels of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3. *J Natl Cancer Inst* 91:620-5
48. **Clark MG, Wallis MG, Barrett EJ, et al.** 2003 Blood flow and muscle metabolism: a focus on insulin action. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 284:E241-58
49. **Kraemer WJ, Hakkinen K, Newton RU, et al.** 1999 Effects of heavy-resistance training on hormonal response patterns in younger vs. older men. *J Appl Physiol* 87:982-92
50. **Duclos M, Corcuff JB, Rashedi M, Fougere V, Manier G** 1997 Trained versus untrained men: different immediate post-exercise responses of pituitary adrenal axis. A preliminary study. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 75:343-50
51. **Zaccaria M, Varnier M, Piazza P, Noventa D, Ermolao A** 1999 Blunted growth hormone response to maximal exercise in middle-aged versus young subjects and no effect of endurance training. *J Clin Endocrinol Metab* 84:2303-7
52. **Ministère de la Jeunesse dS, et de la Vie associative** Sports : les fédérations sportives, le sport de haut niveau, <http://www.jeunesse-sports.gouv.fr>
53. **Saltin B, Astrand PO** 1967 Maximal oxygen uptake in athletes. *J Appl Physiol* 23:353-8
54. **Armstrong LE, VanHeest JL** 2002 The unknown mechanism of the overtraining syndrome: clues from depression and psychoneuroimmunology. *Sports Med* 32:185-209
55. **McEwen BS** 1998 Stress, adaptation, and disease. Allostasis and allostatic load. *Ann N Y Acad Sci* 840:33-44
56. **Nieman DC** 1994 Exercise, upper respiratory tract infection, and the immune system. *Med Sci Sports Exerc* 26:128-39
57. **Haskell WL** 2001 What to look for in assessing responsiveness to exercise in a health context. *Med Sci Sports Exerc* 33:S454-8; discussion S493-4
58. **Helenius IJ, Tikkanen HO, Haahtela T** 1996 Exercise-induced bronchospasm at low temperature in elite runners. *Thorax* 51:628-9
59. **Maron BJ** 2003 Sudden death in young athletes. *N Engl J Med* 349:1064-75
60. **Theintz GE, Howald H, Weiss U, Sizonenko PC** 1993 Evidence for a reduction of growth potential in adolescent female gymnasts. *J Pediatr* 122:306-13
61. **Demorest RA, Landry GL** 2004 Training issues in elite young athletes. *Curr Sports Med Rep* 3:167-72
62. **Yamaji K, Shephard RJ** 1977 Longevity and causes of death of athletes. *J Hum Ergol (Tokyo)* 6:15-27
63. **Karvonen MJ** 1976 Sports and longevity. *Adv Cardiol* 18:243-8

64. **Poznanska A, Gajewski AK** 2001 [Mortality of male members of the Polish olympic teams in 1981-1998.]. *Przegl Epidemiol* 55:305-12
65. **Kujala UM, Kaprio J, Koskenvuo M** 2002 Modifiable risk factors as predictors of all-cause mortality: the roles of genetics and childhood environment. *Am J Epidemiol* 156:985-93
66. **Bergh U, Thorstensson A, Sjodin B, Hulten B, Piehl K, Karlsson J** 1978 Maximal oxygen uptake and muscle fiber types in trained and untrained humans. *Med Sci Sports* 10:151-4
67. **Lillioja S, Young AA, Culter CL, et al..** 1987 Skeletal muscle capillary density and fiber type are possible determinants of in vivo insulin resistance in man. *J Clin Invest* 80:415-24
68. **Tikkanen HO, Hamalainen E, Sarna S, Adlercreutz H, Harkonen M** 1998 Associations between skeletal muscle properties, physical fitness, physical activity and coronary heart disease risk factors in men. *Atherosclerosis* 137:377-89
69. **Parssinen M, Kujala U, Vartiainen E, Sarna S, Seppala T** 2000 Increased premature mortality of competitive powerlifters suspected to have used anabolic agents. *Int J Sports Med* 21:225-7
70. **Thiblin I, Lindquist O, Rajs J** 2000 Cause and manner of death among users of anabolic androgenic steroids. *J Forensic Sci* 45:16-23
71. **Hochberg Z, Pacak K, Chrousos GP** 2003 Endocrine withdrawal syndromes. *Endocr Rev* 24:523-38
72. **American Psychiatric Association** 1996 DSM IV Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux. Traduction française par Guelfi JD, Masson, Paris, Washington DC
73. **Guinot M, Vink T, Flore P, Favre-Juvin A** 2003 Existe-t-il une relation entre le surentraînement et la dépendance à l'exercice ? In 23ème congrès national scientifique de la Société Française de Médecine du Sport - Toulouse - France 15-18 octobre:99-100
74. **Mangon E, Simon S, Franques-Rénéric P, Auriacombe M** 2003 Development of diagnosis criteria for physical activity abuse and dependence: a qualitative study. *Annales de Médecine Interne* 154:33-42
75. **Pierce EF, McGowan RW, Lynn TD** 1993 Exercise dependence in relation to competitive orientation of runners. *J Sports Med Phys Fitness* 33:189-93
76. **Hurst R, Hale B, Smith D, Collins D** 2000 Exercise dependence, social physique anxiety, and social support in experienced and inexperienced bodybuilders and weightlifters. *Br J Sports Med* 34:431-5
77. **Pierce EF, Daleng ML, McGowan RW** 1993 Scores on exercise dependence among dancers. *Percept Mot Skills* 76:531-5
78. **Davis C, Katzman DK, Kirsh C** 1999 Compulsive physical activity in adolescents with anorexia nervosa: a psychobehavioral spiral of pathology. *J Nerv Ment Dis* 187:336-42
79. **Augustad LB** 2000 Prevalence and gender differences in eating attitudes and physical activity among Norwegians. *Eat Weight Disord* 5:62-72
80. **Loucks AB, Thuma JR** 2003 Luteinizing hormone pulsatility is disrupted at a threshold of energy availability in regularly menstruating women. *J Clin Endocrinol Metab* 88:297-311
81. **Barron JL, Noakes TD, Levy W, Smith C, Millar RP** 1985 Hypothalamic dysfunction in overtrained athletes. *J Clin Endocrinol Metab* 60:803-6

82. **Warren MP, Voussoughian F, Geer EB, Hyle EP, Adberg CL, Ramos RH** 1999 Functional hypothalamic amenorrhea: hypoleptinemia and disordered eating. *J Clin Endocrinol Metab* 84:873-7
83. **Warren MP** 1999 Health issues for women athletes: exercise-induced amenorrhea. *J Clin Endocrinol Metab* 84:1892-6
84. **Loucks AB, Mortola JF, Girton L, Yen SS** 1989 Alterations in the hypothalamic-pituitary-ovarian and the hypothalamic-pituitary-adrenal axes in athletic women. *J Clin Endocrinol Metab* 68:402-11
85. **Misra M, Miller KK, Bjornson J, et al.** 2003 Alterations in growth hormone secretory dynamics in adolescent girls with anorexia nervosa and effects on bone metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 88:5615-23
86. **Rickenlund A, Thoren M, Carlstrom K, von Schoultz B, Hirschberg AL** 2004 Diurnal profiles of testosterone and pituitary hormones suggest different mechanisms for menstrual disturbances in endurance athletes. *J Clin Endocrinol Metab* 89:702-7
87. **Nichols JF, Palmer JE, Levy SS** 2003 Low bone mineral density in highly trained male master cyclists. *Osteoporos Int* 14:644-9
88. **Zanker CL, Cooke CB** 2004 Energy balance, bone turnover, and skeletal health in physically active individuals. *Med Sci Sports Exerc* 36:1372-81
89. **Ministère de la Jeunesse dS, et de la Vie associative** Le dopage, [www.santesport.gouv.fr](http://www.santesport.gouv.fr)
90. **Laure P** 1997 Epidemiologic approach of doping in sport. A review. *J Sports Med Phys Fitness* 37:218-24
91. **Turblin P, Grosclaude P, Navarro F, al. e** 1995 Enquête épidémiologique sur le dopage en milieu scolaire dans la région Midi-Pyrénées. *Science & Sports* 10:87-94
92. **OFDT** 2002 Drogues et dépendances, indicateurs et tendances. *Observatoire français des drogues et toxicomanies (OFDT)*, Paris, p 368
93. **Laure P** 1997 [General practitioners and doping in sports: knowledge and attitudes]. *Sante Publique* 9:145-56
94. **Conseil de prévention et de lutte contre le dopage** 2004 Rapport d'activité du conseil de prévention et de lutte contre le dopage. Juin 1999 - Décembre 2003. Conseil de prévention et de lutte contre le Dopage (CPLD), <http://www.cpld.fr/>
95. **Lasne F, de Ceaurriz J** 2000 Recombinant erythropoietin in urine. *Nature* 405:635
96. **Gareau R, Audran M, Baynes RD, et al.** 1996 Erythropoietin abuse in athletes. *Nature* 380:113
97. **Parisotto R, Ashenden MJ, Gore CJ, Sharpe K, Hopkins W, Hahn AG** 2003 The effect of common hematologic abnormalities on the ability of blood models to detect erythropoietin abuse by athletes. *Haematologica* 88:931-40
98. **Vahl N, Moller N, Lauritzen T, Christiansen JS, Jorgensen JO** 1997 Metabolic effects and pharmacokinetics of a growth hormone pulse in healthy adults: relation to age, sex, and body composition. *J Clin Endocrinol Metab* 82:3612-8
99. **Tsushima T, Katoh Y, Miyachi Y, et al.** 1999 Serum concentration of 20K human growth hormone (20K hGH) measured by a specific enzyme-linked immunosorbent assay. Study Group of 20K hGH. *J Clin Endocrinol Metab* 84:317-22
100. **Wu Z, Bidlingmaier M, Dall R, Strasburger CJ** 1999 Detection of doping with human growth hormone. *Lancet* 353:895
101. **Healy ML, Dall R, Gibney J, et al.** 2005 Toward the development of a test for growth hormone (GH) abuse: a study of extreme physiological ranges of GH-dependent markers in 813 elite athletes in the postcompetition setting. *J Clin Endocrinol Metab* 90:641-9

102. **Sartorio A, Agosti F, Marazzi N, et al.** 2004 Combined evaluation of resting IGF-I, N-terminal propeptide of type III procollagen (PIIINP) and C-terminal cross-linked telopeptide of type I collagen (ICTP) levels might be useful for detecting inappropriate GH administration in athletes: a preliminary report. *Clin Endocrinol (Oxf)* 61:487-93
103. **Wallace JD, Cuneo RC, Baxter R, et al.** 1999 Responses of the growth hormone (GH) and insulin-like growth factor axis to exercise, GH administration, and GH withdrawal in trained adult males: a potential test for GH abuse in sport. *J Clin Endocrinol Metab* 84:3591-601
104. **Jones JI, Clemmons DR** 1995 Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev* 16:3-34
105. **Longobardi S, Keay N, Ehrnborg C, et al.** 2000 Growth hormone (GH) effects on bone and collagen turnover in healthy adults and its potential as a marker of GH abuse in sports: a double blind, placebo-controlled study. The GH-2000 Study Group. *J Clin Endocrinol Metab* 85:1505-12
106. **Le Bouc Y, Perin L, Cabrol S, Gourmelen M** 1996 [IGF-I and its regulation system]. *Arch Pediatr* 3 Suppl 1:141s-143s
107. **Hartgens F, Kuipers H** 2004 Effects of androgenic-anabolic steroids in athletes. *Sports Med* 34:513-54
108. **Jenkins PJ** 1999 Growth hormone and exercise. *Clin Endocrinol (Oxf)* 50:683-9
109. **Bhasin S, Storer TW, Berman N, et al.** 1996 The effects of supraphysiologic doses of testosterone on muscle size and strength in normal men. *N Engl J Med* 335:1-7
110. **Eklblom B** 1996 Blood doping and erythropoietin. The effects of variation in hemoglobin concentration and other related factors on physical performance. *Am J Sports Med* 24:S40-2
111. **Magkos F, Kavouras SA** 2004 Caffeine and ephedrine: physiological, metabolic and performance-enhancing effects. *Sports Med* 34:871-89
112. **Collomp K, Candau R, Lasne F, Labsy Z, Prefaut C, De Ceaurriz J** 2000 Effects of short-term oral salbutamol administration on exercise endurance and metabolism. *J Appl Physiol* 89:430-6
113. **Sullivan ML, Martinez CM, Gennis P, Gallagher EJ** 1998 The cardiac toxicity of anabolic steroids. *Prog Cardiovasc Dis* 41:1-15
114. **Reverter JL, Tural C, Rosell A, Dominguez M, Sanmarti A** 1994 Self-induced insulin hypoglycemia in a bodybuilder. *Arch Intern Med* 154:225-6
115. **Todd GR, Acerini CL, Ross-Russell R, Zahra S, Warner JT, McCance D** 2002 Survey of adrenal crisis associated with inhaled corticosteroids in the United Kingdom. *Arch Dis Child* 87:457-61
116. **Kashkin KB, Kleber HD** 1989 Hooked on hormones? An anabolic steroid addiction hypothesis. *Jama* 262:3166-70
117. **Hankinson SE, Willett WC, Colditz GA, et al.** 1998 Circulating concentrations of insulin-like growth factor-I and risk of breast cancer. *Lancet* 351:1393-6
118. **Perry HM** 1993 Risk of Creutzfeldt-Jakob disease in bodybuilders. *Bmj* 307:803
119. **Hartgens F, Rietjens G, Keizer HA, Kuipers H, Wolffenbuttel BH** 2004 Effects of androgenic-anabolic steroids on apolipoproteins and lipoprotein (a). *Br J Sports Med* 38:253-9
120. **Buffet M** 2001 Allocution d'ouverture. In: Lehénaff D (ed) *La santé du sportifs de haut niveau*, Les cahiers de l'INSEP ed, Paris, pp 15-19
121. **Borkowski AJ, Levin S, Delcroix C, Mahler A, Verhas V** 1967 Blood cholesterol and hydrocortisone production in man: quantitative aspects of the utilization of circulating cholesterol by the adrenals at rest and under adrenocorticotropin stimulation. *J Clin Invest* 46:797-811

122. **Newell-Price J, Trainer P, Besser M, Grossman A** 1998 The diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome and pseudo-Cushing's states. *Endocr Rev* 19:647-72
123. **Gicquel C, Le Bouc Y, Luton JP, Girard F, Bertagna X** 1992 Monoclonality of corticotroph macroadenomas in Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab* 75:472-5
124. **Orth D, Kovacs W, Debold C** 1992 Regulation of glucocorticoid secretion. In: Foster W (ed) *Williams text book of endocrinology*, 8 ed. W.B. Saunders, Philadelphia, pp 499-505
125. **Reichlin S** 1992 Corticotropin secretion. In: Foster W (ed) *Williams text book of endocrinology*, 8 ed. W.B. Saunders, Philadelphia, pp 173-4
126. **Stewart P** 2003 Adrenal cortex. In: (Eds) WF (ed) *Williams Text Book of Endocrinology*, 10th ed. W.B. Saunders Co, Philadelphia, pp 503-507
127. **Oki Y, Peatman TW, Qu ZC, Orth DN** 1991 Effects of intracellular Ca<sup>2+</sup> depletion and glucocorticoid on stimulated adrenocorticotropin release by rat anterior pituitary cells in a microperfusion system. *Endocrinology* 128:1589-96
128. **Cooper MS, Stewart PM** 2003 Corticosteroid insufficiency in acutely ill patients. *N Engl J Med* 348:727-34
129. **Veldhuis JD, Johnson ML, Seneta E** 1991 Analysis of the copulsatility of anterior pituitary hormones. *J Clin Endocrinol Metab* 73:569-76
130. **Udelsman R, Goldstein DS, Loriaux DL, Chrousos GP** 1987 Catecholamine-glucocorticoid interactions during surgical stress. *J Surg Res* 43:539-45
131. **Felig P, Cherif A, Minagawa A, Wahren J** 1982 Hypoglycemia during prolonged exercise in normal men. *N Engl J Med* 306:895-900
132. **Aizawa T, Yasuda N, Greer MA** 1981 Hypoglycemia stimulates ACTH secretion through a direct effect on the basal hypothalamus. *Metabolism* 30:996-1000
133. **Bateman A, Singh A, Kral T, Solomon S** 1989 The immune-hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocr Rev* 10:92-112
134. **Spath-Schwalbe E, Born J, Schrezenmeier H, et al.** 1994 Interleukin-6 stimulates the hypothalamus-pituitary-adrenocortical axis in man. *J Clin Endocrinol Metab* 79:1212-4
135. **Path G, Bornstein SR, Ehrhart-Bornstein M, Scherbaum WA** 1997 Interleukin-6 and the interleukin-6 receptor in the human adrenal gland: expression and effects on steroidogenesis. *J Clin Endocrinol Metab* 82:2343-9
136. **Wolf OT, Convit A, de Leon MJ, Caraos C, Qadri SF** 2002 Basal hypothalamo-pituitary-adrenal axis activity and corticotropin feedback in young and older men: relationships to magnetic resonance imaging-derived hippocampus and cingulate gyrus volumes. *Neuroendocrinology* 75:241-9
137. **Wilkinson CW, Petrie EC, Murray SR, Colasurdo EA, Raskind MA, Peskind ER** 2001 Human glucocorticoid feedback inhibition is reduced in older individuals: evening study. *J Clin Endocrinol Metab* 86:545-50
138. **Mendel CM** 1989 The free hormone hypothesis: a physiologically based mathematical model. *Endocr Rev* 10:232-74
139. **Hiramatsu R, Nisula BC** 1987 Erythrocyte-associated cortisol: measurement, kinetics of dissociation, and potential physiological significance. *J Clin Endocrinol Metab* 64:1224-32
140. **Pugeat MM, Dunn JF, Nisula BC** 1981 Transport of steroid hormones: interaction of 70 drugs with testosterone-binding globulin and corticosteroid-binding globulin in human plasma. *J Clin Endocrinol Metab* 53:69-75
141. **Bright GM** 1995 Corticosteroid-binding globulin influences kinetic parameters of plasma cortisol transport and clearance. *J Clin Endocrinol Metab* 80:770-5

142. **Brien TG** 1981 Human corticosteroid binding globulin. *Clin Endocrinol (Oxf)* 14:193-212
143. **Sakai F, Cheix F, Clavel M, et al.** 1978 Increases in steroid binding globulins induced by tamoxifen in patients with carcinoma of the breast. *J Endocrinol* 76:219-26
144. **Orth D, Kovacs W, Debold C** 1992 Metabolism of glucocorticoids. In: Foster W (ed) *Williams text book of endocrinology*, 8 ed. W.B. Saunders, Philadelphia, pp 511-2
145. **Tomlinson JW, Walker EA, Bujalska IJ, et al.** 2004 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1: a tissue-specific regulator of glucocorticoid response. *Endocr Rev* 25:831-66
146. **Purdon C, Brousson M, Nyveen SL, et al.** 1993 The roles of insulin and catecholamines in the glucoregulatory response during intense exercise and early recovery in insulin-dependent diabetic and control subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 76:566-73
147. **Giorgino F, Laviola L, Eriksson JW** 2005 Regional differences of insulin action in adipose tissue: insights from in vivo and in vitro studies. *Acta Physiol Scand* 183:13-30
148. **Yonemura K, Hishida A, Kimura M, Watanabe T, Kumagai H** 1999 Prednisolone induces an increase in serum calcium concentration: possible involvement of the kidney, the bone, and the intestine. *Calcif Tissue Int* 65:267-71
149. **Kraemer WJ, Volek JS, Bush JA, Putukian M, Sebastianelli WJ** 1998 Hormonal responses to consecutive days of heavy-resistance exercise with or without nutritional supplementation. *J Appl Physiol* 85:1544-55
150. **Clark P, Neylon I, Raggatt P, Sheppard M, Stewart P** 1998 Defining the normal cortisol response to Short Synacthen Test: implications for the investigation of the hypothalamic-pituitary disorders. *Clinical Endocrinology* 49:287-292
151. **Nye E, Grice J, Hockings G, et al.** 1999 Comparison of Adrenocorticotropin (ACTH) Stimulation Test and Insulin Hypoglycemia in Normal Humans : Low Dose, Standard High Dose, and 8-Hour ACTH-(1-24) Infusion Tests. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 84:3648-3655
152. **Laudat MH, Cerdas S, Fournier C, Guiban D, Guilhaume B, Luton JP** 1988 Salivary cortisol measurement: a practical approach to assess pituitary-adrenal function. *J Clin Endocrinol Metab* 66:343-8
153. **Thuma JR, Gilders R, Verdun M, Loucks AB** 1995 Circadian rhythm of cortisol confounds cortisol responses to exercise: implications for future research. *J Appl Physiol* 78:1657-64
154. **Umeda T, Hiramatsu R, Iwaoka T, Shimada T, Miura F, Sato T** 1981 Use of saliva for monitoring unbound free cortisol levels in serum. *Clin Chim Acta* 110:245-53
155. **Young J, Couzinet B, Nahoul K, et al.** 1997 Panhypopituitarism as a model to study the metabolism of dehydroepiandrosterone (DHEA) in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 82:2578-85
156. **Nasrallah MP, Arafah BM** 2003 The value of dehydroepiandrosterone sulfate measurements in the assessment of adrenal function. *J Clin Endocrinol Metab* 88:5293-8
157. **Abdu T, Elhadd T, Neary R, Clayton N** 1999 Comparison of the Low Dose Short Synacthen Test (1µg), the Conventional Dose Short Synacthen Test (250 µg), and the Insulin Tolerance Test for Assessment of the Hypothalamo-Pituitary-Adrenal Axis in Patients with Pituitary Disease. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 84:838-843

158. **Clayton R** 1996 Short Synacthen test versus insulin stress test for assessment of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis : controversy revisited. *Clinical Endocrinology* 44:147-149
159. **Stewart P, Seckl J, Corrie J, Edwards C, Padfield P** 1988 A rational approach for assessing the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *The Lancet* 1:1208-1210
160. **Bangar V, Clayton R** 1998 How reliable is the short synacthen test for the investigation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis ? *European Journal of Endocrinology* 139:580-583
161. **Dickstein G, Schechner C, Nicholson W, Rosner I, Schen-Orr Z, Adawi T** 1991 Adrenocorticotropin stimulation test: effects of basal cortisol level, time of day and suggested new sensitive low dose test. *Journal of clinical Endocrinology & Metabolism* 72:773-778
162. **Broide J, Soferman R, Kivity S, et al.** 1995 Low-Dose Adrenocorticotropin Test Reveals Impaired Adrenal Function in Patients Taking Inhaled Corticosteroids. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 80:1243-1246
163. **Dökmetas H, Colak R, Kelestimur F, Selçuklu A, Ünlühizarci K, Bayram F** 2000 A Comparison between the 1- $\mu$ g Adrenocorticotropin (ACTH) Test, the Short ACTH (250  $\mu$ g) Test, and the Insulin Tolerance Test in the Assessment of Hypothalamo-Pituitary-Adrenal Axis Immediately after Pituitary Surgery. *Journal of clinical Endocrinology & Metabolism* 85:3713-3719
164. **Henzen C, Suter A, Lerch E, Urbinelli R, Schorno X, Briner V** 2000 Suppression and recovery of adrenal response after short-term, high-dose glucocorticoid treatment. *The Lancet* 355:542-545
165. **Mayenknecht J, Diederich S, Bahr V, Plockinger U, Oelkers W** 1998 Comparison of Low and High Dose Corticotropin Stimulation Tests in Patients with Pituitary Disease. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 83:1558-1562
166. **Arnaldi G, Angeli A, Atkinson AB, et al.** 2003 Diagnosis and complications of Cushing's syndrome: a consensus statement. *J Clin Endocrinol Metab* 88:5593-602
167. **Yaneva M, Mosnier-Pudar H, Dugue MA, Grabar S, Fulla Y, Bertagna X** 2004 Midnight salivary cortisol for the initial diagnosis of Cushing's syndrome of various causes. *J Clin Endocrinol Metab* 89:3345-51
168. **Yanovs.ki JA, Cutler GB, Jr., Chrousos GP, Nieman LK** 1993 Corticotropin-releasing hormone stimulation following low-dose dexamethasone administration. A new test to distinguish Cushing's syndrome from pseudo-Cushing's states. *Jama* 269:2232-8
169. **Gold PW, Chrousos GP** 1985 Clinical studies with corticotropin releasing factor: implications for the diagnosis and pathophysiology of depression, Cushing's disease, and adrenal insufficiency. *Psychoneuroendocrinology* 10:401-19
170. **Jeffcoate W** 1993 Alcohol-induced pseudo-Cushing's syndrome. *Lancet* 341:676-7
171. **Soyka L, Grinspoon S, Levitsky L, Herzog D, Klibanski A** 1999 The effects of anorexia nervosa on bone metabolism in female adolescents. *J Clin Endocrinol Metab* 84:4489-96
172. **Canalis E** 2003 Mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Curr Opin Rheumatol* 15:454-7
173. **Le Roith D, Bondy C, Yakar S, Liu JL, Butler A** 2001 The somatomedin hypothesis: 2001. *Endocr Rev* 22:53-74
174. **Melmed S, Kleinberg D** 2003 Anterior pituitary. In: Foster W (ed) *Williams text book of endocrinology*, 10th ed. W.B. Saunders, Philadelphia, pp 219-243
175. **Leung DW, Spencer SA, Cachianes G, et al.** 1987 Growth hormone receptor and serum binding protein: purification, cloning and expression. *Nature* 330:537-43

176. **Giustina A, Veldhuis JD** 1998 Pathophysiology of the neuroregulation of growth hormone secretion in experimental animals and the human. *Endocr Rev* 19:717-97
177. **Casanueva FF, Villanueva L, Cabranes JA, Cabezas-Cerrato J, Fernandez-Cruz A** 1984 Cholinergic mediation of growth hormone secretion elicited by arginine, clonidine, and physical exercise in man. *J Clin Endocrinol Metab* 59:526-30
178. **Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K** 1999 Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 402:656-60
179. **Rosenthal SM, Hulse JA, Kaplan SL, Grumbach MM** 1986 Exogenous growth hormone inhibits growth hormone-releasing factor-induced growth hormone secretion in normal men. *J Clin Invest* 77:176-80
180. **Salmon WD, Jr., Daughaday WH** 1957 A hormonally controlled serum factor which stimulates sulfate incorporation by cartilage in vitro. *J Lab Clin Med* 49:825-36
181. **Salomon F, Cuneo RC, Hesp R, Sonksen PH** 1989 The effects of treatment with recombinant human growth hormone on body composition and metabolism in adults with growth hormone deficiency. *N Engl J Med* 321:1797-803
182. **Binnerts A, Deurenberg P, Swart GR, Wilson JH, Lamberts SW** 1992 Body composition in growth hormone-deficient adults. *Am J Clin Nutr* 55:918-23
183. **Jansson JO, Albertsson-Wikland K, Eden S, Thorngren KG, Isaksson O** 1982 Circumstantial evidence for a role of the secretory pattern of growth hormone in control of body growth. *Acta Endocrinol (Copenh)* 99:24-30
184. **Cuneo RC, Salomon F, Wiles CM, Hesp R, Sonksen PH** 1991 Growth hormone treatment in growth hormone-deficient adults. I. Effects on muscle mass and strength. *J Appl Physiol* 70:688-94
185. **Carroll PV, Christ ER, Bengtsson BA, et al.** 1998 Growth hormone deficiency in adulthood and the effects of growth hormone replacement: a review. Growth Hormone Research Society Scientific Committee. *J Clin Endocrinol Metab* 83:382-95
186. **Cuneo RC, Salomon F, Wilmschurst P, et al.** 1991 Cardiovascular effects of growth hormone treatment in growth-hormone-deficient adults: stimulation of the renin-aldosterone system. *Clin Sci (Lond)* 81:587-92
187. **Masuda A, Shibasaki T, Nakahara M, et al.** 1985 The effect of glucose on growth hormone (GH)-releasing hormone-mediated GH secretion in man. *J Clin Endocrinol Metab* 60:523-6
188. **Delitala G, Tomasi PA, Palermo M, Fresu P** 1990 Interaction of glucose and pyridostigmine on the secretion of growth hormone (GH) induced by GH-releasing hormone (GHRH). *J Endocrinol Invest* 13:653-6
189. **Ghigo E, Bellone J, Mazza E, et al.** 1990 Arginine potentiates the GHRH- but not the pyridostigmine-induced GH secretion in normal short children. Further evidence for a somatostatin suppressing effect of arginine. *Clin Endocrinol (Oxf)* 32:763-7
190. **Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S** 1987 Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 327:524-6
191. **Boger RH, Skamira C, Bode-Boger SM, Brabant G, von zur Muhlen A, Frolich JC** 1996 Nitric oxide may mediate the hemodynamic effects of recombinant growth hormone in patients with acquired growth hormone deficiency. A double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Invest* 98:2706-13
192. **Volpi R, Chiodera P, Caffarri G, et al.** 1996 Influence of nitric oxide on hypoglycemia--or angiotensin II-stimulated ACTH and GH secretion in normal men. *Neuropeptides* 30:528-32
193. **Korbonits M, Trainer PJ, Fanciulli G, et al.** 1996 L-arginine is unlikely to exert neuroendocrine effects in humans via the generation of nitric oxide. *Eur J Endocrinol* 135:543-7

194. **Imaki T, Shibasaki T, Shizume K, et al.** 1985 The effect of free fatty acids on growth hormone (GH)-releasing hormone-mediated GH secretion in man. *J Clin Endocrinol Metab* 60:290-3
195. **Pontiroli AE, Lanzi R, Monti LD, Sandoli E, Pozza G** 1991 Growth hormone (GH) autofeedback on GH response to GH-releasing hormone. Role of free fatty acids and somatostatin. *J Clin Endocrinol Metab* 72:492-5
196. **Rosenbaum M, Fong YM, Hesse DG, et al.** 1989 Intravenous refeeding blocks growth hormone (GH)-provoked rises in serum free fatty acids and blunting of somatotroph response to GH-releasing hormone in normal men. *J Clin Endocrinol Metab* 69:310-6
197. **Lee EJ, Nam SY, Kim KR, et al.** 1995 Acipimox potentiates growth hormone (GH) response to GH-releasing hormone with or without pyridostigmine by lowering serum free fatty acid in normal and obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 80:2495-8
198. **Giustina A, Romanelli G, Candrina R, Giustina G** 1989 Growth hormone deficiency in patients with idiopathic adrenocorticotropin deficiency resolves during glucocorticoid replacement. *J Clin Endocrinol Metab* 68:120-4
199. **Giustina A, Girelli A, Doga M, et al.** 1990 Pyridostigmine blocks the inhibitory effect of glucocorticoids on growth hormone-releasing hormone stimulated growth hormone secretion in normal man. *J Clin Endocrinol Metab* 71:580-4
200. **Kerrigan JR, Rogol AD** 1992 The impact of gonadal steroid hormone action on growth hormone secretion during childhood and adolescence. *Endocr Rev* 13:281-98
201. **Pritzlaff-Roy CJ, Wideman L, Weltman JY, et al.** 2002 Gender governs the relationship between exercise intensity and growth hormone release in young adults. *J Appl Physiol* 92:2053-60
202. **Ulloa-Aguirre A, Blizzard RM, Garcia-Rubi E, et al.** 1990 Testosterone and oxandrolone, a nonaromatizable androgen, specifically amplify the mass and rate of growth hormone (GH) secreted per burst without altering GH secretory burst duration or frequency or the GH half-life. *J Clin Endocrinol Metab* 71:846-54
203. **Fryburg DA, Weltman A, Jahn LA, et al.** 1997 Short-term modulation of the androgen milieu alters pulsatile, but not exercise- or growth hormone (GH)-releasing hormone-stimulated GH secretion in healthy men: impact of gonadal steroid and GH secretory changes on metabolic outcomes. *J Clin Endocrinol Metab* 82:3710-9
204. **Metzger DL, Kerrigan JR** 1994 Estrogen receptor blockade with tamoxifen diminishes growth hormone secretion in boys: evidence for a stimulatory role of endogenous estrogens during male adolescence. *J Clin Endocrinol Metab* 79:513-8
205. **Metzger DL, Kerrigan JR** 1993 Androgen receptor blockade with flutamide enhances growth hormone secretion in late pubertal males: evidence for independent actions of estrogen and androgen. *J Clin Endocrinol Metab* 76:1147-52
206. **Hobbs CJ, Plymate SR, Rosen CJ, Adler RA** 1993 Testosterone administration increases insulin-like growth factor-I levels in normal men. *J Clin Endocrinol Metab* 77:776-9
207. **Bhasin S, Woodhouse L, Casaburi R, et al.** 2001 Testosterone dose-response relationships in healthy young men. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 281:E1172-81
208. **Leung KC, Johannsson G, Leong GM, Ho KK** 2004 Estrogen regulation of growth hormone action. *Endocr Rev* 25:693-721
209. **Wennink JM, Delemarre-van de Waal HA, Schoemaker R, Blaauw G, van den Braken C, Schoemaker J** 1991 Growth hormone secretion patterns in relation to LH and estradiol secretion throughout normal female puberty. *Acta Endocrinol (Copenh)* 124:129-35

210. **Mauras N, Rogol AD, Veldhuis JD** 1989 Specific, time-dependent actions of low-dose ethinyl estradiol administration on the episodic release of growth hormone, follicle-stimulating hormone, and luteinizing hormone in prepubertal girls with Turner's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 69:1053-8
211. **Frantz AG, Rabkin MT** 1965 Effects of estrogen and sex difference on secretion of human growth hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 25:1470-80
212. **Faria AC, Bekenstein LW, Booth RA, Jr., et al.** 1992 Pulsatile growth hormone release in normal women during the menstrual cycle. *Clin Endocrinol (Oxf)* 36:591-6
213. **Cano A, Castelo-Branco C, Tarin JJ** 1999 Effect of menopause and different combined estradiol-progestin regimens on basal and growth hormone-releasing hormone-stimulated serum growth hormone, insulin-like growth factor-1, insulin-like growth factor binding protein (IGFBP)-1, and IGFBP-3 levels. *Fertil Steril* 71:261-7
214. **Goodman-Gruen D, Barrett-Connor E** 1996 Effect of replacement estrogen on insulin-like growth factor-I in postmenopausal women: the Rancho Bernardo Study. *J Clin Endocrinol Metab* 81:4268-71
215. **Vestergaard P, Hermann AP, Orskov H, Mosekilde L** 1999 Effect of sex hormone replacement on the insulin-like growth factor system and bone mineral: a cross-sectional and longitudinal study in 595 perimenopausal women participating in the Danish Osteoporosis Prevention Study. *J Clin Endocrinol Metab* 84:2286-90
216. **Kam GY, Leung KC, Baxter RC, Ho KK** 2000 Estrogens exert route- and dose-dependent effects on insulin-like growth factor (IGF)-binding protein-3 and the acid-labile subunit of the IGF ternary complex. *J Clin Endocrinol Metab* 85:1918-22
217. **Kelly JJ, Rajkovic IA, O'Sullivan AJ, Sernia C, Ho KK** 1993 Effects of different oral oestrogen formulations on insulin-like growth factor-I, growth hormone and growth hormone binding protein in post-menopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 39:561-7
218. **Campbell MJ, Woodside JV, Secker-Walker J, Titcomb A, Leathem AJ** 2001 IGF status is altered by tamoxifen in patients with breast cancer. *Mol Pathol* 54:307-10
219. **Seehusen DA, Glorioso JE** 2002 Tamoxifen as an ergogenic agent in women body builders. *Clin J Sport Med* 12:313-4
220. **Chetkowski RJ, Meldrum DR, Steingold KA, et al.** 1986 Biologic effects of transdermal estradiol. *N Engl J Med* 314:1615-20
221. **Friend KE, Hartman ML, Pezzoli SS, Clasey JL, Thorner MO** 1996 Both oral and transdermal estrogen increase growth hormone release in postmenopausal women--a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab* 81:2250-6
222. **Leung KC, Doyle N, Ballesteros M, et al.** 2003 Estrogen inhibits GH signaling by suppressing GH-induced JAK2 phosphorylation, an effect mediated by SOCS-2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:1016-21
223. **Chernausek SD, Turner R** 1989 Attenuation of spontaneous, nocturnal growth hormone secretion in children with hypothyroidism and its correlation with plasma insulin-like growth factor I concentrations. *J Pediatr* 114:968-72
224. **Williams T, Maxon H, Thorner MO, Frohman LA** 1985 Blunted growth hormone (GH) response to GH-releasing hormone in hypothyroidism resolves in the euthyroid state. *J Clin Endocrinol Metab* 61:454-6
225. **Giustina A, Ferrari C, Bordini C, et al.** 1990 Effects of methimazole treatment on growth hormone (GH) response to GH-releasing hormone in patients with hyperthyroidism. *Acta Endocrinol (Copenh)* 123:613-8
226. **Weltman A, Weltman JY, Hartman ML, et al.** 1994 Relationship between age, percentage body fat, fitness, and 24-hour growth hormone release in healthy young adults: effects of gender. *J Clin Endocrinol Metab* 78:543-8

227. **Friend K, Iranmanesh A, Login IS, Veldhuis JD** 1997 Pyridostigmine treatment selectively amplifies the mass of GH secreted per burst without altering GH burst frequency, half-life, basal GH secretion or the orderliness of GH release. *Eur J Endocrinol* 137:377-86
228. **Hilding A, Hall K, Wivall-Helleryd IL, Saaf M, Melin AL, Thoren M** 1999 Serum levels of insulin-like growth factor I in 152 patients with growth hormone deficiency, aged 19-82 years, in relation to those in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 84:2013-9
229. **Landin-Wilhelmsen K, Wilhelmsen L, Lappas G, et al.** 1994 Serum insulin-like growth factor I in a random population sample of men and women: relation to age, sex, smoking habits, coffee consumption and physical activity, blood pressure and concentrations of plasma lipids, fibrinogen, parathyroid hormone and osteocalcin. *Clin Endocrinol (Oxf)* 41:351-7
230. **Daughaday WH, Rotwein P** 1989 Insulin-like growth factors I and II. Peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum, and tissue concentrations. *Endocr Rev* 10:68-91
231. **Iranmanesh A, Lizarralde G, Veldhuis JD** 1991 Age and relative adiposity are specific negative determinants of the frequency and amplitude of growth hormone (GH) secretory bursts and the half-life of endogenous GH in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab* 73:1081-8
232. **Clasey JL, Weltman A, Patrie J, et al.** 2001 Abdominal visceral fat and fasting insulin are important predictors of 24-hour GH release independent of age, gender, and other physiological factors. *J Clin Endocrinol Metab* 86:3845-52
233. **Maiter D, Fliesen T, Underwood LE, et al.** 1989 Dietary protein restriction decreases insulin-like growth factor I independent of insulin and liver growth hormone binding. *Endocrinology* 124:2604-11
234. **Thissen JP, Ketelslegers JM, Underwood LE** 1994 Nutritional regulation of the insulin-like growth factors. *Endocr Rev* 15:80-101
235. **Van Cauter E, Plat L, Copinschi G** 1998 Interrelations between sleep and the somatotrophic axis. *Sleep* 21:553-66
236. **Colson A, Le Cam A, Maiter D, Edery M, Thissen JP** 2000 Potentiation of growth hormone-induced liver suppressors of cytokine signaling messenger ribonucleic acid by cytokines. *Endocrinology* 141:3687-95
237. **Counts DR, Gwirtsman H, Carlsson LM, Lesem M, Cutler GB, Jr.** 1992 The effect of anorexia nervosa and refeeding on growth hormone-binding protein, the insulin-like growth factors (IGFs), and the IGF-binding proteins. *J Clin Endocrinol Metab* 75:762-7
238. **Isley WL, Underwood LE, Clemmons DR** 1983 Dietary components that regulate serum somatomedin-C concentrations in humans. *J Clin Invest* 71:175-82
239. **Clemmons DR, Seek MM, Underwood LE** 1985 Supplemental essential amino acids augment the somatomedin-C/insulin-like growth factor I response to refeeding after fasting. *Metabolism* 34:391-5
240. **Snyder DK, Clemmons DR, Underwood LE** 1989 Dietary carbohydrate content determines responsiveness to growth hormone in energy-restricted humans. *J Clin Endocrinol Metab* 69:745-52
241. **Hochberg Z, Hertz P, Colin V, et al.** 1992 The distal axis of growth hormone (GH) in nutritional disorders: GH-binding protein, insulin-like growth factor-I (IGF-I), and IGF-I receptors in obesity and anorexia nervosa. *Metabolism* 41:106-12
242. **Baxter RC, Bryson JM, Turtle JR** 1980 Somatogenic receptors of rat liver: regulation by insulin. *Endocrinology* 107:1176-81

243. **Froesch ER, Buergi H, Ramseier EB, Bally P, Labhart A** 1963 Antibody-Suppressible and Nonsuppressible Insulin-Like Activities in Human Serum and Their Physiologic Significance. An Insulin Assay with Adipose Tissue of Increased Precision and Specificity. *J Clin Invest* 42:1816-34
244. **Rinderknecht E, Humbel RE** 1978 The amino acid sequence of human insulin-like growth factor I and its structural homology with proinsulin. *J Biol Chem* 253:2769-76
245. **Daughaday WH, Kapadia M, Mariz I** 1987 Serum somatomedin binding proteins: physiologic significance and interference in radioligand assay. *J Lab Clin Med* 109:355-63
246. **Schoenle E, Zapf J, Froesch ER** 1982 Glucose transport in adipocytes and its control by growth hormone in vivo. *Am J Physiol* 242:E368-72
247. **D'Ercole AJ, Stiles AD, Underwood LE** 1984 Tissue concentrations of somatomedin C: further evidence for multiple sites of synthesis and paracrine or autocrine mechanisms of action. *Proc Natl Acad Sci U S A* 81:935-9
248. **DeChiara TM, Efstratiadis A, Robertson EJ** 1990 A growth-deficiency phenotype in heterozygous mice carrying an insulin-like growth factor II gene disrupted by targeting. *Nature* 345:78-80
249. **Boulware SD, Tamborlane WV, Rennert NJ, Gesundheit N, Sherwin RS** 1994 Comparison of the metabolic effects of recombinant human insulin-like growth factor-I and insulin. Dose-response relationships in healthy young and middle-aged adults. *J Clin Invest* 93:1131-9
250. **Jacob R, Barrett E, Plewe G, Fagin KD, Sherwin RS** 1989 Acute effects of insulin-like growth factor I on glucose and amino acid metabolism in the awake fasted rat. Comparison with insulin. *J Clin Invest* 83:1717-23
251. **Guler HP, Zapf J, Froesch ER** 1987 Short-term metabolic effects of recombinant human insulin-like growth factor I in healthy adults. *N Engl J Med* 317:137-40
252. **Turkalj I, Keller U, Ninnis R, Vosmeer S, Stauffacher W** 1992 Effect of increasing doses of recombinant human insulin-like growth factor-I on glucose, lipid, and leucine metabolism in man. *J Clin Endocrinol Metab* 75:1186-91
253. **Hokama JY, Streeper RS, Henriksen EJ** 1997 Voluntary exercise training enhances glucose transport in muscle stimulated by insulin-like growth factor I. *J Appl Physiol* 82:508-12
254. **Clemmons DR** 2004 The relative roles of growth hormone and IGF-1 in controlling insulin sensitivity. *J Clin Invest* 113:25-7
255. **Hirschberg R, Brunori G, Kopple JD, Guler HP** 1993 Effects of insulin-like growth factor I on renal function in normal men. *Kidney Int* 43:387-97
256. **Davis SR, Hodgkinson SC, Moore LG, Gluckman PD** 1989 Improved estimates of clearance of <sup>131</sup>I-labelled insulin-like growth factor-I carrier protein complexes from blood plasma of sheep. *J Endocrinol* 123:469-75
257. **Clemmons DR, Snyder DK, Busby WH, Jr.** 1991 Variables controlling the secretion of insulin-like growth factor binding protein-2 in normal human subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 73:727-33
258. **Binoux M, Roghani M, Hossenlopp P, Hardouin S, Gournelen M** 1991 Molecular forms of human IGF binding proteins: physiological implications. *Acta Endocrinol (Copenh)* 124 Suppl 2:41-7
259. **Davenport ML, Isley WL, Pucilowska JB, et al.** 1992 Insulin-like growth factor-binding protein-3 proteolysis is induced after elective surgery. *J Clin Endocrinol Metab* 75:590-5
260. **Schwarz AJ, Brasel JA, Hintz RL, Mohan S, Cooper DM** 1996 Acute effect of brief low- and high-intensity exercise on circulating insulin-like growth factor (IGF) I,

- II, and IGF-binding protein-3 and its proteolysis in young healthy men. *J Clin Endocrinol Metab* 81:3492-7
261. **Wallace JD, Cuneo RC, Lundberg PA, et al.** 2000 Responses of markers of bone and collagen turnover to exercise, growth hormone (GH) administration, and GH withdrawal in trained adult males. *J Clin Endocrinol Metab* 85:124-33
262. **Ehrnborg C, Lange KH, Dall R, et al.** 2003 The growth hormone/insulin-like growth factor-I axis hormones and bone markers in elite athletes in response to a maximum exercise test. *J Clin Endocrinol Metab* 88:394-401
263. **Pholsena M, Le Bouc Y, Rousseau E, et al.** 1993 Evaluation of acromegaly by measurement of 24-hourly urinary growth hormone excretion. *Acta Endocrinol (Copenh)* 128:9-14
264. **Baxter RC, Martin JL** 1989 Structure of the Mr 140,000 growth hormone-dependent insulin-like growth factor binding protein complex: determination by reconstitution and affinity-labeling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86:6898-902
265. **Biller BM, Samuels MH, Zagar A, et al.** 2002 Sensitivity and specificity of six tests for the diagnosis of adult GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 87:2067-79
266. **Rosen T, Bengtsson BA** 1990 Premature mortality due to cardiovascular disease in hypopituitarism. *Lancet* 336:285-8
267. **Yarasheski KE, Zachweija JJ, Angelopoulos TJ, Bier DM** 1993 Short-term growth hormone treatment does not increase muscle protein synthesis in experienced weight lifters. *J Appl Physiol* 74:3073-6
268. **Colao A, Ferone D, Marzullo P, Lombardi G** 2004 Systemic complications of acromegaly: epidemiology, pathogenesis, and management. *Endocr Rev* 25:102-52
269. **Orme SM, McNally RJ, Cartwright RA, Belchetz PE** 1998 Mortality and cancer incidence in acromegaly: a retrospective cohort study. United Kingdom Acromegaly Study Group. *J Clin Endocrinol Metab* 83:2730-4
270. **Swearingen B, Barker FG, 2nd, Katznelson L, et al.** 1998 Long-term mortality after transsphenoidal surgery and adjunctive therapy for acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 83:3419-26
271. **Melmed S** 2001 Acromegaly and cancer: not a problem? *J Clin Endocrinol Metab* 86:2929-34
272. **Beentjes JA, van Gorkom BA, Sluiter WJ, de Vries EG, Kleibeuker JH, Dullaart RP** 2000 One year growth hormone replacement therapy does not alter colonic epithelial cell proliferation in growth hormone deficient adults. *Clin Endocrinol (Oxf)* 52:457-62
273. **Ohlsson C, Bengtsson BA, Isaksson OG, Andreassen TT, Slootweg MC** 1998 Growth hormone and bone. *Endocr Rev* 19:55-79
274. **Chan JM, Stampfer MJ, Giovannucci E, et al.** 1998 Plasma insulin-like growth factor-I and prostate cancer risk: a prospective study. *Science* 279:563-6
275. **Swerdlow AJ, Higgins CD, Adlard P, Preece MA** 2002 Risk of cancer in patients treated with human pituitary growth hormone in the UK, 1959-85: a cohort study. *Lancet* 360:273-7
276. **Prockop DJ, Kivirikko KI, Tuderman L, Guzman NA** 1979 The biosynthesis of collagen and its disorders (second of two parts). *N Engl J Med* 301:77-85
277. **Golub EE** 1996 Enzymes in mineralizing systems: state of the art. *Connect Tissue Res* 35:183-8
278. **Garnero P, Bianchi F, Carlier MC, et al.** 2000 [Biochemical markers of bone remodeling: pre-analytical variations and guidelines for their use. SFBC (Societe Francaise de Biologie Clinique) Work Group. Biochemical markers of bone remodeling]. *Ann Biol Clin (Paris)* 58:683-704

279. **Hauschka PV, Lian JB, Cole DE, Gundberg CM** 1989 Osteocalcin and matrix Gla protein: vitamin K-dependent proteins in bone. *Physiol Rev* 69:990-1047
280. **Aubin JE** 1998 Advances in the osteoblast lineage. *Biochem Cell Biol* 76:899-910
281. **Suda T, Takahashi N, Udagawa N, Jimi E, Gillespie MT, Martin TJ** 1999 Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. *Endocr Rev* 20:345-57
282. **Raisz L, Kream B, Lorenzo J** 2003 Metabolic bone disease. In: Foster W (ed) *Williams text book of endocrinology*, 10th ed. W.B. Saunders, Philadelphia, pp 1373-1381
283. **Nemet D, Oh Y, Kim HS, Hill M, Cooper DM** 2002 Effect of intense exercise on inflammatory cytokines and growth mediators in adolescent boys. *Pediatrics* 110:681-9
284. **Roux S, Orcel P** 2002 L'ostéoprotégérine. In: De Sèze S, Ryckewaert A, Kahn M, Kuntz D (eds) *L'actualité rhumatologique*. Elsevier, Paris, pp 313-26
285. **Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, et al.** 1997 Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 89:309-19
286. **Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, et al.** 1999 OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature* 397:315-23
287. **Morony S, Capparelli C, Lee R, et al.** 1999 A chimeric form of osteoprotegerin inhibits hypercalcemia and bone resorption induced by IL-1beta, TNF-alpha, PTH, PTHrP, and 1, 25(OH)2D3. *J Bone Miner Res* 14:1478-85
288. **Hofbauer LC, Gori F, Riggs BL, et al.** 1999 Stimulation of osteoprotegerin ligand and inhibition of osteoprotegerin production by glucocorticoids in human osteoblastic lineage cells: potential paracrine mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Endocrinology* 140:4382-9
289. **Hofbauer LC, Dunstan CR, Spelsberg TC, Riggs BL, Khosla S** 1998 Osteoprotegerin production by human osteoblast lineage cells is stimulated by vitamin D, bone morphogenetic protein-2, and cytokines. *Biochem Biophys Res Commun* 250:776-81
290. **Rosen CJ** 2005 Clinical practice. Postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 353:595-603
291. **Frost HM** 1990 Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 4. Mechanical influences on intact fibrous tissues. *Anat Rec* 226:433-9
292. **Giangregorio L, Blimkie C** 2002 Skeletal adaptations to alterations in weight-bearing activity: a comparison of models of disuse osteoporosis. *Sports medicine* 32:459-76
293. **Vuori IM** 2001 Dose-response of physical activity and low back pain, osteoarthritis, and osteoporosis. *Med Sci Sports Exerc* 33:S551-86; discussion 609-10
294. **Recker RR, Davies KM, Hinders SM, Heaney RP, Stegman MR, Kimmel DB** 1992 Bone gain in young adult women. *Jama* 268:2403-8
295. **Pettersson U, Nordstrom P, Alfredson H, Henriksson-Larsen K, Lorentzon R** 2000 Effect of high impact activity on bone mass and size in adolescent females: A comparative study between two different types of sports. *Calcif Tissue Int* 67:207-14
296. **Taaffe DR, Robinson TL, Snow CM, Marcus R** 1997 High-impact exercise promotes bone gain in well-trained female athletes. *J Bone Miner Res* 12:255-60
297. **Karlsson MK, Johnell O, Obrant KJ** 1993 Bone mineral density in weight lifters. *Calcif Tissue Int* 52:212-5

298. **Taaffe DR, Snow-Harter C, Connolly DA, Robinson TL, Brown MD, Marcus R** 1995 Differential effects of swimming versus weight-bearing activity on bone mineral status of eumenorrheic athletes. *J Bone Miner Res* 10:586-93
299. **Frost HM** 1987 Bone "mass" and the "mechanostat": a proposal. *Anat Rec* 219:1-9
300. **Hetland ML, Haarbo J, Christiansen C** 1993 Low bone mass and high bone turnover in male long distance runners. *J Clin Endocrinol Metab* 77:770-5
301. **Souberbielle JC, Cormier C, Kindermans C** 1999 Bone markers in clinical practice. *Curr Opin Rheumatol* 11:312-9
302. **Epstein S, Poser J, McClintock R, Johnston CC, Jr., Bryce G, Hui S** 1984 Differences in serum bone GLA protein with age and sex. *Lancet* 1:307-10
303. **Garnero P, Sornay-Rendu E, Claustrat B, Delmas PD** 2000 Biochemical markers of bone turnover, endogenous hormones and the risk of fractures in postmenopausal women: the OFELY study. *J Bone Miner Res* 15:1526-36
304. **Fatayerji D, Eastell R** 1999 Age-related changes in bone turnover in men. *J Bone Miner Res* 14:1203-10
305. **Szulc P, Garnero P, Munoz F, Marchand F, Delmas PD** 2001 Cross-sectional evaluation of bone metabolism in men. *J Bone Miner Res* 16:1642-50
306. **Akesson K, Kakonen SM, Josefsson PO, Karlsson MK, Obrant KJ, Pettersson K** 2005 Fracture-induced changes in bone turnover: a potential confounder in the use of biochemical markers in osteoporosis. *J Bone Miner Metab* 23:30-5
307. **Ihle R, Loucks AB** 2004 Dose-response relationships between energy availability and bone turnover in young exercising women. *J Bone Miner Res* 19:1231-40
308. **Soyka LA, Grinspoon S, Levitsky LL, Herzog DB, Klibanski A** 1999 The effects of anorexia nervosa on bone metabolism in female adolescents. *J Clin Endocrinol Metab* 84:4489-96
309. **Soyka LA, Misra M, Frenchman A, et al.** 2002 Abnormal bone mineral accrual in adolescent girls with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 87:4177-85
310. **Garnero P, Delmas PD** 1993 Assessment of the serum levels of bone alkaline phosphatase with a new immunoradiometric assay in patients with metabolic bone disease. *J Clin Endocrinol Metab* 77:1046-53
311. **Prockop DJ, Kivirikko KI, Tuderman L, Guzman NA** 1979 The biosynthesis of collagen and its disorders (first of two parts). *N Engl J Med* 301:13-23
312. **Krane SM, Kantrowitz FG, Byrne M, Pinnell SR, Singer FR** 1977 Urinary excretion of hydroxylysine and its glycosides as an index of collagen degradation. *J Clin Invest* 59:819-27
313. **Bettica P, Moro L, Robins SP, et al.** 1992 Bone-resorption markers galactosyl hydroxylysine, pyridinium crosslinks, and hydroxyproline compared. *Clin Chem* 38:2313-8
314. **Rosen HN, Moses AC, Garber J, Ross DS, Lee SL, Greenspan SL** 1998 Utility of biochemical markers of bone turnover in the follow-up of patients treated with bisphosphonates. *Calcif Tissue Int* 63:363-8
315. **Fisher LW, Whitson SW, Avioli LV, Termine JD** 1983 Matrix sialoprotein of developing bone. *J Biol Chem* 258:12723-7
316. **Bianco P, Fisher LW, Young MF, Termine JD, Robey PG** 1991 Expression of bone sialoprotein (BSP) in developing human tissues. *Calcif Tissue Int* 49:421-6
317. **Woitge HW, Seibel MJ** 1999 Molecular markers of bone and cartilage metabolism. *Curr Opin Rheumatol* 11:218-25
318. **Eriksen EF, Kudsk H, Emmertsen K, Mosekilde L, Melsen F** 1993 Bone remodeling during calcitonin excess: reconstruction of the remodeling sequence in medullary thyroid carcinoma. *Bone* 14:399-401

319. **Wollmann HA, Schonau E, Blum WF, Meyer F, Kruse K, Ranke MB** 1995 Dose-dependent responses in insulin-like growth factors, insulin-like growth factor-binding protein-3 and parameters of bone metabolism to growth hormone therapy in young adults with growth hormone deficiency. *Horm Res* 43:249-56
320. **Kotzmann H, Bernecker P, Hubsch P, et al.** 1993 Bone mineral density and parameters of bone metabolism in patients with acromegaly. *J Bone Miner Res* 8:459-65
321. **Terzolo M, Piovesan A, Osella G, et al.** 1993 Serum levels of bone Gla protein (osteocalcin, BGP) and carboxyterminal propeptide of type I procollagen (PICP) in acromegaly: effects of long-term octreotide treatment. *Calcif Tissue Int* 52:188-91
322. **Yakar S, Rosen CJ** 2003 From mouse to man: redefining the role of insulin-like growth factor-I in the acquisition of bone mass. *Exp Biol Med (Maywood)* 228:245-52
323. **Norjavaara E, Gerhardsson de Verdier M, Lindmark B** 2001 Adult height in women with childhood asthma--a population-based study. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 10:121-5
324. **Morrison D, Capewell S, Reynolds SP, et al.** 1994 Testosterone levels during systemic and inhaled corticosteroid therapy. *Respir Med* 88:659-63
325. **Rodd C, Jourdain N, Alini M** 2004 Action of estradiol on epiphyseal growth plate chondrocytes. *Calcif Tissue Int* 75:214-24
326. **Riggs BL, Khosla S, Melton LJ, 3rd** 2002 Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. *Endocr Rev* 23:279-302
327. **Vanderschueren D, Vandenput L, Boonen S, Lindberg MK, Bouillon R, Ohlsson C** 2004 Androgens and bone. *Endocr Rev* 25:389-425
328. **Jodar Gimeno E, Munoz-Torres M, Escobar-Jimenez F, Quesada Charneco M, Luna del Castillo JD, Olea N** 1997 Identification of metabolic bone disease in patients with endogenous hyperthyroidism: role of biological markers of bone turnover. *Calcif Tissue Int* 61:370-6
329. **Reid IR, Evans MC, Cooper GJ, Ames RW, Stapleton J** 1993 Circulating insulin levels are related to bone density in normal postmenopausal women. *Am J Physiol* 265:E655-9
330. **Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, et al.** 1995 Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 269:543-6
331. **Ducy P, Amling M, Takeda S, et al.** 2000 Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. *Cell* 100:197-207
332. **Khosla S** 2002 Leptin-central or peripheral to the regulation of bone metabolism? *Endocrinology* 143:4161-4
333. **Burguera B, Hofbauer LC, Thomas T, et al.** 2001 Leptin reduces ovariectomy-induced bone loss in rats. *Endocrinology* 142:3546-53
334. **Blain H, Vuillemin A, Guillemin F, et al.** 2002 Serum leptin level is a predictor of bone mineral density in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 87:1030-5
335. **Thomas T, Burguera B, Melton LJ, 3rd, et al.** 2001 Role of serum leptin, insulin, and estrogen levels as potential mediators of the relationship between fat mass and bone mineral density in men versus women. *Bone* 29:114-20
336. **Welt CK, Chan JL, Bullen J, et al.** 2004 Recombinant human leptin in women with hypothalamic amenorrhea. *N Engl J Med* 351:987-97
337. **Takeda S, Eleftheriou F, Levasseur R, et al.** 2002 Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system. *Cell* 111:305-17
338. **Eleftheriou F, Ahn JD, Takeda S, et al.** 2005 Leptin regulation of bone resorption by the sympathetic nervous system and CART. *Nature* 434:514-20

339. **Reid IR, Gamble GD, Grey AB, et al.** 2005 beta-Blocker use, BMD, and fractures in the study of osteoporotic fractures. *J Bone Miner Res* 20:613-8
340. **Inder WJ, Hellemans J, Swanney MP, Prickett TC, Donald RA** 1998 Prolonged exercise increases peripheral plasma ACTH, CRH, and AVP in male athletes. *J Appl Physiol* 85:835-41
341. **Pedersen BK, Steensberg A, Schjerling P** 2001 Muscle-derived interleukin-6: possible biological effects. *J Physiol* 536:329-37
342. **Starkie RL, Arkinstall MJ, Koukoulas I, Hawley JA, Febbraio MA** 2001 Carbohydrate ingestion attenuates the increase in plasma interleukin-6, but not skeletal muscle interleukin-6 mRNA, during exercise in humans. *J Physiol* 533:585-91
343. **Ahtiainen JP, Pakarinen A, Kraemer WJ, Hakkinen K** 2003 Acute hormonal and neuromuscular responses and recovery to forced vs. maximum repetitions multiple resistance exercises. *Int J Sports Med* 24:410-8
344. **Buono MJ, Yeager JE** 1991 Increases in aldosterone precede those of cortisol during graded exercise. *J Sports Med Phys Fitness* 31:48-51
345. **Deuster PA, Chrousos GP, Luger A, et al.** 1989 Hormonal and metabolic responses of untrained, moderately trained, and highly trained men to three exercise intensities. *Metabolism* 38:141-8
346. **Farrell PA, Garthwaite TL, Gustafson AB** 1983 Plasma adrenocorticotropin and cortisol responses to submaximal and exhaustive exercise. *J Appl Physiol* 55:1441-4
347. **Farrell PA, Kjaer M, Bach FW, Galbo H** 1987 Beta-endorphin and adrenocorticotropin response to supramaximal treadmill exercise in trained and untrained males. *Acta Physiol Scand* 130:619-25
348. **Luger A, Deuster PA, Kyle SB, et al.** 1987 Acute hypothalamic-pituitary-adrenal responses to the stress of treadmill exercise. *Physiologic adaptations to physical training. N Engl J Med* 316:1309-15
349. **Few JD, Cashmore GC, Turton G** 1980 Adrenocortical response to one-leg and two-leg exercise on a bicycle ergometer. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 44:167-74
350. **Hollander D, Durand R, Trynicky J, et al.** 2003 RPE, pain, and physiological adjustment to concentric and eccentric contractions. *Medicine & Science Sports in Exercise* 35:1017-1025
351. **Kjaer M, Hanel B, Worm L, et al.** 1999 Cardiovascular and neuroendocrine responses to exercise in hypoxia during impaired neural feedback from muscle. *Am J Physiol* 277:R76-85
352. **Tremblay MS, Copeland JL, Van Helder W** 2004 Effect of training status and exercise mode on endogenous steroid hormones in men. *J Appl Physiol* 96:531-9
353. **Kemmler W, Wildt L, Engelke K, et al.** 2003 Acute hormonal responses of a high impact physical exercise session in early postmenopausal women. *Eur J Appl Physiol* 90:199-209
354. **Kostka T, Patricot M, Mathian B, Lacour R, Bonnefoy M** 2003 Anabolic and catabolic hormonal responses to experimental two-set low-volume resistance exercise in sedentary and active elderly people. *Aging Clinical Experimental Reserch* 15:123-30.
355. **Kindermann W, Schnabel A, Schmitt WM, Biro G, Cassens J, Weber F** 1982 Catecholamines, growth hormone, cortisol, insulin, and sex hormones in anaerobic and aerobic exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 49:389-99
356. **Tabata I, Atomi Y, Miyashita M** 1984 Blood glucose concentration dependent ACTH and cortisol responses to prolonged exercise. *Clin Physiol* 4:299-307
357. **Buono MJ, Yeager JE, Hodgdon JA** 1986 Plasma adrenocorticotropin and cortisol responses to brief high-intensity exercise in humans. *J Appl Physiol* 61:1337-9

358. **Kanaley JA, Weltman JY, Pieper KS, Weltman A, Hartman ML** 2001 Cortisol and growth hormone responses to exercise at different times of day. *J Clin Endocrinol Metab* 86:2881-9
359. **Nindl BC, Kraemer WJ, Deaver DR, et al.** 2001 LH secretion and testosterone concentrations are blunted after resistance exercise in men. *J Appl Physiol* 91:1251-8
360. **Kern W, Perras B, Wodick R, Fehm HL, Born J** 1995 Hormonal secretion during nighttime sleep indicating stress of daytime exercise. *J Appl Physiol* 79:1461-8
361. **Silverman HG, Mazzeo RS** 1996 Hormonal responses to maximal and submaximal exercise in trained and untrained men of various ages. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 51:B30-7
362. **Petrides JS, Mueller GP, Kalogeras KT, Chrousos GP, Gold PW, Deuster PA** 1994 Exercise-induced activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: marked differences in the sensitivity to glucocorticoid suppression. *J Clin Endocrinol Metab* 79:377-83
363. **Duclos M, Corcuff JB, Roger P, Tabarin A** 1999 The dexamethasone-suppressed corticotrophin-releasing hormone stimulation test in anorexia nervosa. *Clin Endocrinol (Oxf)* 51:725-31
364. **Raastad T, Glomsheller T, Bjoro T, Hallen J** 2003 Recovery of skeletal muscle contractility and hormonal responses to strength exercise after two weeks of high-volume strength training. *Scandinavian Journal of Medicine Science Sports* 13:159-68
365. **Urhausen A, Gabriel HH, Kindermann W** 1998 Impaired pituitary hormonal response to exhaustive exercise in overtrained endurance athletes. *Med Sci Sports Exerc* 30:407-14
366. **Meeusen R, Piacentini MF, Busschaert B, Buyse L, De Schutter G, Stray-Gundersen J** 2004 Hormonal responses in athletes: the use of a two bout exercise protocol to detect subtle differences in (over)training status. *Eur J Appl Physiol* 91:140-6
367. **Brandenberger G, Follenius M, Hietter B** 1982 Feedback from meal-related peaks determines diurnal changes in cortisol response to exercise. *J Clin Endocrinol Metab* 54:592-6
368. **Nieman D, Davis J, Henson D, et al.** 2003 Carbohydrate ingestion influences skeletal muscle cytokine mRNA and plasma cytokine levels after a 3-h run. *Journal of Applied Physiology* 94:1917-25
369. **Nehlsen-Cannarella SL, Fagoaga OR, Nieman DC, et al.** 1997 Carbohydrate and the cytokine response to 2.5 h of running. *J Appl Physiol* 82:1662-7
370. **Robson P** 2003 Elucidating the unexplained underperformance syndrome in endurance athletes : the interleukin-6 hypothesis. *Sports Med* 33:771-81
371. **Smith LL** 2000 Cytokine hypothesis of overtraining: a physiological adaptation to excessive stress? *Med Sci Sports Exerc* 32:317-31
372. **Steinacker JM, Lormes W, Reissnecker S, Liu Y** 2004 New aspects of the hormone and cytokine response to training. *Eur J Appl Physiol* 91:382-91
373. **McEwen BS** 1998 Protective and damaging effects of stress mediators. *N Engl J Med* 338:171-9
374. **Gold PW, Loriaux DL, Roy A, et al.** 1986 Responses to corticotropin-releasing hormone in the hypercortisolism of depression and Cushing's disease. Pathophysiologic and diagnostic implications. *N Engl J Med* 314:1329-35
375. **Gold PW, Gwirtsman H, Avgerinos PC, et al.** 1986 Abnormal hypothalamic-pituitary-adrenal function in anorexia nervosa. Pathophysiologic mechanisms in underweight and weight-corrected patients. *N Engl J Med* 314:1335-42

376. **Duclos M, Minkhar M, Sarrieau A, Bonnemaïson D, Manier G, Mormede P** 1999 Reversibility of endurance training-induced changes on glucocorticoid sensitivity of monocytes by an acute exercise. *Clin Endocrinol (Oxf)* 51:749-56
377. **Duclos M, Corcuff JB, Pehourcq F, Tabarin A** 2001 Decreased pituitary sensitivity to glucocorticoids in endurance-trained men. *Eur J Endocrinol* 144:363-8
378. **Gouarne C, Groussard C, Gratas-Delamarche A, Delamarche P, Duclos M** 2005 Overnight urinary cortisol and cortisone add new insights into adaptation to training. *Med Sci Sports Exerc* 37:1157-67
379. **Heuser IJ, Wark HJ, Keul J, Holsboer F** 1991 Hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in elderly endurance athletes. *J Clin Endocrinol Metab* 73:485-8
380. **Ferret J, Mathian B, Dupuis J, Martin G, De Peretti E, David M** 2004 Variations des taux d'androgènes et de cortisol au cours de six saisons chez des footballeurs professionnels. *Science & Sports* 19:19-27
381. **Hoogveen AR, Zonderland ML** 1996 Relationships between testosterone, cortisol and performance in professional cyclists. *Int J Sports Med* 17:423-8
382. **Filaire E, Jouanel P, Colombier M, Begue R, Lac G** 2003 Effects of 16 weeks of training prior to a major competition on hormonal and biochemical parameters in young elite gymnasts. *Journal of Pediatric Endocrinology & Metabolism* 16:741-50
383. **Filaire E, Duche P, Lac G** 1998 Effects of training for two ball games on the saliva response of adrenocortical hormones to exercise in elite sportswomen. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 77:452-6
384. **Villanueva AL, Schlosser C, Hopper B, Liu JH, Hoffman DI, Rebar RW** 1986 Increased cortisol production in women runners. *J Clin Endocrinol Metab* 63:133-6
385. **Atlaoui D, Duclos M, Gouarne C, Lacoste L, Barale F, Chatard JC** 2004 The 24-h urinary cortisol/cortisone ratio for monitoring training in elite swimmers. *Med Sci Sports Exerc* 36:218-24
386. **White PC, Mune T, Agarwal AK** 1997 11 beta-Hydroxysteroid dehydrogenase and the syndrome of apparent mineralocorticoid excess. *Endocr Rev* 18:135-56
387. **Pritzlaff CJ, Wideman L, Weltman JY, et al.** 1999 Impact of acute exercise intensity on pulsatile growth hormone release in men. *J Appl Physiol* 87:498-504
388. **Sutton J, Lazarus L** 1976 Growth hormone in exercise: comparison of physiological and pharmacological stimuli. *J Appl Physiol* 41:523-7
389. **Maas HCM, de Vries WR, Maitimu I, Bol E, Bowers CY, Koppeschaar HP** 2000 Growth hormone responses during strenuous exercise: the role of GH-releasing hormone and GH-releasing peptide-2. *Med Sci Sports Exerc* 32:1226-32
390. **Dall R, Kanaley J, Hansen TK, et al.** 2002 Plasma ghrelin levels during exercise in healthy subjects and in growth hormone-deficient patients. *Eur J Endocrinol* 147:65-70
391. **de Vries WR, Schers TJ, Ait Abdesselam S, Osman-Dualeh M, Maitimu I, Koppeschaar HP** 2003 Involvement of endogenous growth hormone-releasing hormone (GHRH) in the exercise-related response of growth hormone. *Int J Sports Med* 24:208-11
392. **Weltman A, Pritzlaff CJ, Wideman L, et al.** 2000 Exercise-dependent growth hormone release is linked to markers of heightened central adrenergic outflow. *J Appl Physiol* 89:629-35
393. **Uusitupa M, Siitonen O, Harkonen M, et al.** 1982 Modification of the metabolic and hormonal response to physical exercise by beta-blocking agents. *Ann Clin Res* 14 Suppl 34:165-7

394. **Giustina A, Malerba M, Bresciani E, et al.** 1995 Effect of two beta 2-agonist drugs, salbutamol and broxaterol, on the growth hormone response to exercise in adult patients with asthmatic bronchitis. *J Endocrinol Invest* 18:847-52
395. **Piacentini MF, Meeusen R, Buyse L, et al.** 2002 No effect of a noradrenergic reuptake inhibitor on performance in trained cyclists. *Med Sci Sports Exerc* 34:1189-93
396. **Sutton J, Lazarus L** 1974 Effect of adrenergic blocking agents on growth hormone responses to physical exercise. *Horm Metab Res* 6:428-9
397. **Hansen AP** 1971 The effect of adrenergic receptor blockade on the exercise-induced serum growth hormone rise in normals and juvenile diabetics. *J Clin Endocrinol Metab* 33:807-12
398. **Cappa M, Grossi A, Benedetti S, Drago F, Loche S, Ghigo E** 1993 Effect of the enhancement of the cholinergic tone by pyridostigmine on the exercise-induced growth hormone release in man. *J Endocrinol Invest* 16:421-4
399. **Thompson DL, Weltman JY, Rogol AD, Metzger DL, Veldhuis JD, Weltman A** 1993 Cholinergic and opioid involvement in release of growth hormone during exercise and recovery. *J Appl Physiol* 75:870-8
400. **Nooitgedagt A, Koppeschaar HP, de Vries WR, et al.** 1997 Influence of endogenous cholinergic tone and growth hormone-releasing peptide-6 on exercise induced growth hormone release. *Clin Endocrinol (Oxf)* 46:195-202
401. **Moretti C, Fabbri A, Gnassi L, et al.** 1983 Naloxone inhibits exercise-induced release of PRL and GH in athletes. *Clin Endocrinol (Oxf)* 18:135-8
402. **Coiro V, Volpi R, Maffei ML, et al.** 1994 Opioid modulation of the gamma-aminobutyric acid-controlled inhibition of exercise-stimulated growth hormone and prolactin secretion in normal men. *Eur J Endocrinol* 131:50-5
403. **Meeusen R, Piacentini MF, Van Den Eynde S, Magnus L, De Meirleir K** 2001 Exercise performance is not influenced by a 5-HT reuptake inhibitor. *Int J Sports Med* 22:329-36
404. **Felsing NE, Brasel JA, Cooper DM** 1992 Effect of low and high intensity exercise on circulating growth hormone in men. *J Clin Endocrinol Metab* 75:157-62
405. **Spiler IJ, Molitch ME** 1980 Lack of modulation of pituitary hormone stress response by neural pathways involving opiate receptors. *J Clin Endocrinol Metab* 50:516-20
406. **Luger A, Watschinger B, Deuster P, Svoboda T, Clodi M, Chrousos GP** 1992 Plasma growth hormone and prolactin responses to graded levels of acute exercise and to a lactate infusion. *Neuroendocrinology* 56:112-7
407. **Sutton JR, Jones NL, Toews CJ** 1976 Growth hormone secretion in acid-base alterations at rest and during exercise. *Clin Sci Mol Med* 50:241-7
408. **Godfrey RJ, Madgwick Z, Whyte GP** 2003 The exercise-induced growth hormone response in athletes. *Sports Med* 33:599-613
409. **Gosselink KL, Grindeland RE, Roy RR, Zhong H, Bigbee AJ, Edgerton VR** 2000 Afferent input from rat slow skeletal muscle inhibits bioassayable growth hormone release. *J Appl Physiol* 88:142-8
410. **Gosselink KL, Grindeland RE, Roy RR, et al.** 1998 Skeletal muscle afferent regulation of bioassayable growth hormone in the rat pituitary. *J Appl Physiol* 84:1425-30
411. **Gosselink KL, Roy RR, Zhong H, Grindeland RE, Bigbee AJ, Edgerton VR** 2004 Vibration-Induced Activation of Muscle Afferents Modulates Bioassayable Growth Hormone Release. *J Appl Physiol*

412. **McCall GE, Gosselink KL, Bigbee AJ, Roy RR, Grindeland RE, Edgerton VR** 2001 Muscle afferent-pituitary axis: a novel pathway for modulating the secretion of a pituitary growth factor. *Exerc Sport Sci Rev* 29:164-9
413. **Takarada Y, Nakamura Y, Aruga S, Onda T, Miyazaki S, Ishii N** 2000 Rapid increase in plasma growth hormone after low-intensity resistance exercise with vascular occlusion. *J Appl Physiol* 88:61-5
414. **Consitt LA, Copeland JL, Tremblay MS** 2002 Endogenous anabolic hormone responses to endurance versus resistance exercise and training in women. *Sports Med* 32:1-22
415. **Kraemer WJ, Marchitelli L, Gordon SE, et al.** 1990 Hormonal and growth factor responses to heavy resistance exercise protocols. *J Appl Physiol* 69:1442-50
416. **Vanhelder WP, Radomski MW, Goode RC** 1984 Growth hormone responses during intermittent weight lifting exercise in men. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 53:31-4
417. **Vanhelder WP, Goode RC, Radomski MW** 1984 Effect of anaerobic and aerobic exercise of equal duration and work expenditure on plasma growth hormone levels. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 52:255-7
418. **Chwalbinska-Moneta J, Krzysztofiak F, Ziemba A, Nazar K, Kaciuba-Uscilko H** 1996 Threshold increases in plasma growth hormone in relation to plasma catecholamine and blood lactate concentrations during progressive exercise in endurance-trained athletes. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 73:117-20
419. **Durand RJ, Castracane VD, Hollander DB, et al.** 2003 Hormonal responses from concentric and eccentric muscle contractions. *Med Sci Sports Exerc* 35:937-43
420. **Kozlowski S, Chwalbinska-Moneta J, Vigas M, Kaciuba-Uscilko H, Nazar K** 1983 Greater serum GH response to arm than to leg exercise performed at equivalent oxygen uptake. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 52:131-5
421. **Kraemer WJ, Fleck SJ, Dziados JE, et al.** 1993 Changes in hormonal concentrations after different heavy-resistance exercise protocols in women. *J Appl Physiol* 75:594-604
422. **Weltman A, Weltman JY, Schurrer R, Evans WS, Veldhuis JD, Rogol AD** 1992 Endurance training amplifies the pulsatile release of growth hormone: effects of training intensity. *J Appl Physiol* 72:2188-96
423. **Sidney K, Shephard R** 1977 Growth hormone and cortisol - age differences. Effects of exercise training. *Can J Appl Sports Sci* 2:189-93
424. **Hartley LH, Mason JW, Hogan RP, et al.** 1972 Multiple hormonal responses to prolonged exercise in relation to physical training. *J Appl Physiol* 33:607-10
425. **Weltman A, Weltman JY, Womack CJ, et al.** 1997 Exercise training decreases the growth hormone (GH) response to acute constant-load exercise. *Med Sci Sports Exerc* 29:669-76
426. **Vasankari TJ, Kujala UM, Heinonen OJ, Huhtaniemi IT** 1993 Effects of endurance training on hormonal responses to prolonged physical exercise in males. *Acta Endocrinol (Copenh)* 129:109-13
427. **Craig BW, Brown R, Everhart J** 1989 Effects of progressive resistance training on growth hormone and testosterone levels in young and elderly subjects. *Mech Ageing Dev* 49:159-69
428. **Wideman L, Weltman JY, Patrie JT, et al.** 2000 Synergy of L-arginine and growth hormone (GH)-releasing peptide-2 on GH release: influence of gender. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 279:R1455-66
429. **Pyka G, Wiswell RA, Marcus R** 1992 Age-dependent effect of resistance exercise on growth hormone secretion in people. *J Clin Endocrinol Metab* 75:404-7

430. **Marcell TJ, Wiswell RA, Hawkins SA, Tarpinning KM** 1999 Age-related blunting of growth hormone secretion during exercise may not be solely due to increased somatostatin tone. *Metabolism* 48:665-70
431. **Hakkinen K, Pakarinen A, Newton RU, Kraemer WJ** 1998 Acute hormone responses to heavy resistance lower and upper extremity exercise in young versus old men. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 77:312-9
432. **Holt RI, Webb E, Pentecost C, Sonksen PH** 2001 Aging and physical fitness are more important than obesity in determining exercise-induced generation of GH. *J Clin Endocrinol Metab* 86:5715-20
433. **Bang P, Brandt J, Degerblad M, et al.** 1990 Exercise-induced changes in insulin-like growth factors and their low molecular weight binding protein in healthy subjects and patients with growth hormone deficiency. *Eur J Clin Invest* 20:285-92
434. **Cappon J, Brasel JA, Mohan S, Cooper DM** 1994 Effect of brief exercise on circulating insulin-like growth factor I. *J Appl Physiol* 76:2490-6
435. **Wallace JD, Cuneo RC, Bidlingmaier M, et al.** 2001 The response of molecular isoforms of growth hormone to acute exercise in trained adult males. *J Clin Endocrinol Metab* 86:200-6
436. **Di Luigi L, Guidetti L, Nordio M, Baldari C, Romanelli F** 2001 Acute effects of physical exercise on serum Insulin-Like Growth Factor-Binding protein 2 and 3 in healthy men: role of exercise-linked Growth hormone secretion. *Int J Sports Med* 22:103-10
437. **Donath MY, Jenni R, Brunner HP, et al.** 1996 Cardiovascular and metabolic effects of insulin-like growth factor I at rest and during exercise in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 81:4089-94
438. **Koistinen H, Koistinen R, Selenius L, Ylikorkala Q, Seppala M** 1996 Effect of marathon run on serum IGF-I and IGF-binding protein 1 and 3 levels. *J Appl Physiol* 80:760-4
439. **Kraemer RR, Durand RJ, Acevedo EO, et al.** 2004 Rigorous running increases growth hormone and insulin-like growth factor-I without altering ghrelin. *Exp Biol Med (Maywood)* 229:240-6
440. **Nguyen UN, Mouglin F, Simon-Rigaud ML, Rouillon JD, Marguet P, Regnard J** 1998 Influence of exercise duration on serum insulin-like growth factor and its binding proteins in athletes. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 78:533-7
441. **Schmidt W, Dore S, Hilgendorf A, Strauch S, Gareau R, Brisson GR** 1995 Effects of exercise during normoxia and hypoxia on the growth hormone-insulin-like growth factor I axis. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 71:424-30
442. **Bermon S, Ferrari P, Bernard P, Altare S, Dolisi C** 1999 Responses of total and free insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-3 after resistance exercise and training in elderly subjects. *Acta Physiol Scand* 165:51-6
443. **Bonnefoy M, Kostka T, Patricot MC, Berthouze SE, Mathian B, Lacour JR** 1999 Influence of acute and chronic exercise on insulin-like growth factor-I in healthy active elderly men and women. *Aging (Milano)* 11:373-9
444. **Kraemer WJ, Aguilera BA, Terada M, et al.** 1995 Responses of IGF-I to endogenous increases in growth hormone after heavy-resistance exercise. *J Appl Physiol* 79:1310-5
445. **Nindl BC, Kraemer WJ, Marx JO, et al.** 2001 Overnight responses of the circulating IGF-I system after acute, heavy-resistance exercise. *J Appl Physiol* 90:1319-26
446. **Raastad T, Bjoro T, Hallen J** 2000 Hormonal responses to high- and moderate-intensity strength exercise. *Eur J Appl Physiol* 82:121-8

447. **Lundvall J, Lindgren P** 1998 F-cell shift and protein loss strongly affect validity of PV reductions indicated by Hb/Hct and plasma proteins. *J Appl Physiol* 84:822-9
448. **Brahm H, Piehl-Aulin K, Saltin B, Ljunghall S** 1997 Net fluxes over working thigh of hormones, growth factors and biomarkers of bone metabolism during short lasting dynamic exercise. *Calcif Tissue Int* 60:175-80
449. **Manetta J, Brun JF, Fedou C, Maimoun L, Prefaut C, Mercier J** 2003 Serum levels of insulin-like growth factor-I (IGF-I), and IGF-binding proteins-1 and -3 in middle-aged and young athletes versus sedentary men: relationship with glucose disposal. *Metabolism* 52:821-6
450. **Mesotten D, Wouters PJ, Peeters RP, et al.** 2004 Regulation of the somatotrophic axis by intensive insulin therapy during protracted critical illness. *J Clin Endocrinol Metab* 89:3105-13
451. **Lavoie JM, Fillion Y, Couturier K, Corriveau P** 2002 Evidence that the decrease in liver glycogen is associated with the exercise-induced increase in IGFBP-1. *J Appl Physiol* 93:798-804; discussion 797
452. **Hardie DG, Scott JW, Pan DA, Hudson ER** 2003 Management of cellular energy by the AMP-activated protein kinase system. *FEBS Lett* 546:113-20
453. **MacDonald C, Wojtaszewski JF, Pedersen BK, Kiens B, Richter EA** 2003 Interleukin-6 release from human skeletal muscle during exercise: relation to AMPK activity. *J Appl Physiol* 95:2273-7
454. **Lewitt MS** 2001 Stimulation of IGF-binding protein-1 secretion by AMP-activated protein kinase. *Biochem Biophys Res Commun* 282:1126-31
455. **Kelly M, Keller C, Avilucea PR, et al.** 2004 AMPK activity is diminished in tissues of IL-6 knockout mice: the effect of exercise. *Biochem Biophys Res Commun* 320:449-54
456. **Nindl BC, Hymer WC, Deaver DR, Kraemer WJ** 2001 Growth hormone pulsatility profile characteristics following acute heavy resistance exercise. *J Appl Physiol* 91:163-72
457. **Chicharro JL, Lopez-Calderon A, Hoyos J, et al.** 2001 Effects of an endurance cycling competition on resting serum insulin-like growth factor I (IGF-I) and its binding proteins IGFBP-1 and IGFBP-3. *Br J Sports Med* 35:303-7
458. **Deuschle M, Blum WF, Frystyk J, et al.** 1998 Endurance training and its effect upon the activity of the GH-IGFs system in the elderly. *Int J Sports Med* 19:250-4
459. **Eliakim A, Nemet D, Bar-Sela S, Higer Y, Falk B** 2002 Changes in circulating IGF-I and their correlation with self-assessment and fitness among elite athletes. *Int J Sports Med* 23:600-3
460. **Eliakim A, Scheett TP, Newcomb R, Mohan S, Cooper DM** 2001 Fitness, training, and the growth hormone-->insulin-like growth factor I axis in prepubertal girls. *J Clin Endocrinol Metab* 86:2797-802
461. **Eliakim A, Brasel JA, Mohan S, Barstow TJ, Berman N, Cooper DM** 1996 Physical fitness, endurance training, and the growth hormone-insulin-like growth factor I system in adolescent females. *J Clin Endocrinol Metab* 81:3986-92
462. **Manetta J, Brun JF, Maimoun L, Fedou C, Prefaut C, Mercier J** 2003 The effects of intensive training on insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF binding proteins 1 and 3 in competitive cyclists: relationships with glucose disposal. *J Sports Sci* 21:147-54
463. **Nemet D, Connolly PH, Pontello-Pescatello AM, et al.** 2004 Negative energy balance plays a major role in the IGF-I response to exercise training. *J Appl Physiol* 96:276-82

464. **Nindl BC, Castellani JW, Young AJ, et al.** 2003 Differential responses of IGF-I molecular complexes to military operational field training. *J Appl Physiol* 95:1083-9
465. **Poehlman ET, Rosen CJ, Copeland KC** 1994 The influence of endurance training on insulin-like growth factor-1 in older individuals. *Metabolism* 43:1401-5
466. **Roelen CA, de Vries WR, Koppeschaar HP, Vervoorn C, Thijssen JH, Blankenstein MA** 1997 Plasma insulin-like growth factor-I and high affinity growth hormone-binding protein levels increase after two weeks of strenuous physical training. *Int J Sports Med* 18:238-41
467. **Koziris LP, Hickson RC, Chatterton RT, Jr., et al.** 1999 Serum levels of total and free IGF-I and IGFBP-3 are increased and maintained in long-term training. *J Appl Physiol* 86:1436-42
468. **Rosendal L, Langberg H, Flyvbjerg A, Frystyk J, Orskov H, Kjaer M** 2002 Physical capacity influences the response of insulin-like growth factor and its binding proteins to training. *J Appl Physiol* 93:1669-75
469. **Scheett TP, Nemet D, Stoppani J, Maresh CM, Newcomb R, Cooper DM** 2002 The effect of endurance-type exercise training on growth mediators and inflammatory cytokines in pre-pubertal and early pubertal males. *Pediatr Res* 52:491-7
470. **Borst SE, De Hoyos DV, Garzarella L, et al.** 2001 Effects of resistance training on insulin-like growth factor-I and IGF binding proteins. *Med Sci Sports Exerc* 33:648-53
471. **Borst SE, Vincent KR, Lowenthal DT, Braith RW** 2002 Effects of resistance training on insulin-like growth factor and its binding proteins in men and women aged 60 to 85. *J Am Geriatr Soc* 50:884-8
472. **Daly RM, Rich PA, Klein R** 1998 Hormonal responses to physical training in high-level peripubertal male gymnasts. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 79:74-81
473. **Nicklas BJ, Ryan AJ, Treuth MM, et al.** 1995 Testosterone, growth hormone and IGF-I responses to acute and chronic resistive exercise in men aged 55-70 years. *Int J Sports Med* 16:445-50
474. **Jahreis G, Kauf E, Frohner G, Schmidt HE** 1991 Influence of intensive exercise on insulin-like growth factor I, thyroid and steroid hormones in female gymnasts. *Growth Regul* 1:95-9
475. **Roemmich JN, Sinning WE** 1997 Weight loss and wrestling training: effects on growth-related hormones. *J Appl Physiol* 82:1760-4
476. **Tissandier O, Peres G, Fiet J, Piette F** 2001 Testosterone, dehydroepiandrosterone, insulin-like growth factor 1, and insulin in sedentary and physically trained aged men. *Eur J Appl Physiol* 85:177-84
477. **Hug M, Mullis P, Vogt M, Ventura N, Hoppeler H** 2003 Training modalities: over-reaching and over-training in athletes, including a study of the role of hormones. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 17:191-209
478. **Ashizawa N, Ouchi G, Fujimura R, Yoshida Y, Tokuyama K, Suzuki M** 1998 Effects of a single bout of resistance exercise on calcium and bone metabolism in untrained young males. *Calcif Tissue Int* 62:104-8
479. **Thorsen K, Kristoffersson A, Hultdin J, Lorentzon R** 1997 Effects of moderate endurance exercise on calcium, parathyroid hormone, and markers of bone metabolism in young women. *Calcif Tissue Int* 60:16-20
480. **Langberg H, Skovgaard D, Asp S, Kjaer M** 2000 Time pattern of exercise-induced changes in type I collagen turnover after prolonged endurance exercise in humans. *Calcif Tissue Int* 67:41-4

481. **Kristoffersson A, Hultdin J, Holmlund I, Thorsen K, Lorentzon R** 1995 Effects of short-term maximal work on plasma calcium, parathyroid hormone, osteocalcin and biochemical markers of collagen metabolism. *Int J Sports Med* 16:145-9
482. **Brahm H, Piehl-Aulin K, Ljunghall S** 1997 Bone metabolism during exercise and recovery: the influence of plasma volume and physical fitness. *Calcif Tissue Int* 61:192-8
483. **Rong H, Berg U, Topping O, Sundberg CJ, Granberg B, Bucht E** 1997 Effect of acute endurance and strength exercise on circulating calcium-regulating hormones and bone markers in young healthy males. *Scand J Med Sci Sports* 7:152-9
484. **Salvesen H, Johansson AG, Foxdal P, Wide L, Piehl-Aulin K, Ljunghall S** 1994 Intact serum parathyroid hormone levels increase during running exercise in well-trained men. *Calcif Tissue Int* 54:256-61
485. **Nishiyama S, Tomoeda S, Ohta T, Higuchi A, Matsuda I** 1988 Differences in basal and postexercise osteocalcin levels in athletic and nonathletic humans. *Calcif Tissue Int* 43:150-4
486. **Crespo R, Revilla M, Villa LF, Usabiaga J, Leibar X, Rico H** 1999 Transient dissociation of bone metabolism induced by high performance exercise: a study in elite marathon runners. *Calcif Tissue Int* 64:287-90
487. **Eliakim A, Raisz LG, Brasel JA, Cooper DM** 1997 Evidence for increased bone formation following a brief endurance-type training intervention in adolescent males. *J Bone Miner Res* 12:1708-13
488. **Shibata Y, Ohsawa I, Watanabe T, Miura T, Sato Y** 2003 Effects of physical training on bone mineral density and bone metabolism. *J Physiol Anthropol Appl Human Sci* 22:203-8
489. **Woitge HW, Friedmann B, Suttner S, et al.** 1998 Changes in bone turnover induced by aerobic and anaerobic exercise in young males. *J Bone Miner Res* 13:1797-804
490. **Maimoun L, Galy O, Manetta J, et al.** 2004 Competitive season of triathlon does not alter bone metabolism and bone mineral status in male triathletes. *Int J Sports Med* 25:230-4
491. **Bennell KL, Malcolm SA, Khan KM, et al.** 1997 Bone mass and bone turnover in power athletes, endurance athletes, and controls: a 12-month longitudinal study. *Bone* 20:477-84
492. **Brahm H, Strom H, Piehl-Aulin K, Mallmin H, Ljunghall S** 1997 Bone metabolism in endurance trained athletes: a comparison to population-based controls based on DXA, SXA, quantitative ultrasound, and biochemical markers. *Calcif Tissue Int* 61:448-54
493. **Schroeder ET, Hawkins SA, Jaque SV** 2004 Musculoskeletal adaptations to 16 weeks of eccentric progressive resistance training in young women. *J Strength Cond Res* 18:227-35
494. **Lohman T, Going S, Pamerter R, et al.** 1995 Effects of resistance training on regional and total bone mineral density in premenopausal women: a randomized prospective study. *J Bone Miner Res* 10:1015-24
495. **Karlsson MK, Johnell O, Obrant KJ** 1995 Is bone mineral density advantage maintained long-term in previous weight lifters? *Calcif Tissue Int* 57:325-8
496. **Menkes A, Mazel S, Redmond RA, et al.** 1993 Strength training increases regional bone mineral density and bone remodeling in middle-aged and older men. *J Appl Physiol* 74:2478-84
497. **Daly RM, Rich PA, Klein R, Bass S** 1999 Effects of high-impact exercise on ultrasonic and biochemical indices of skeletal status: A prospective study in young male gymnasts. *J Bone Miner Res* 14:1222-30

498. **Sartorio A, Lafortuna C, Capodaglio P, Vangeli V, Narici MV, Faglia G** 2001 Effects of a 16-week progressive high-intensity strength training (HIST) on indexes of bone turnover in men over 65 years: a randomized controlled study. *J Endocrinol Invest* 24:882-6
499. **Karlsson KM, Karlsson C, Ahlborg HG, Valdimarsson O, Ljunghall S, Obrant KJ** 2003 Bone turnover responses to changed physical activity. *Calcif Tissue Int* 72:675-80
500. **Gremion G, Rizzoli R, Slosman D, Theintz G, Bonjour JP** 2001 Oligo-amenorrheic long-distance runners may lose more bone in spine than in femur. *Med Sci Sports Exerc* 33:15-21
501. **Remes T, Vaisanen SB, Mahonen A, et al.** 2004 The association of bone metabolism with bone mineral density, serum sex hormone concentrations, and regular exercise in middle-aged men. *Bone* 35:439-47
502. **Gibson JH, Mitchell A, Harries MG, Reeve J** 2004 Nutritional and exercise-related determinants of bone density in elite female runners. *Osteoporos Int* 15:611-8
503. **Karlsson KM, Karlsson C, Ahlborg HG, Valdimarsson O, Ljunghall S** 2003 The duration of exercise as a regulator of bone turnover. *Calcif Tissue Int* 73:350-5
504. **Zanker CL, Swaine IL** 2000 Responses of bone turnover markers to repeated endurance running in humans under conditions of energy balance or energy restriction. *Eur J Appl Physiol* 83:434-40
505. **Grinspoon S, Thomas E, Pitts S, et al.** 2000 Prevalence and predictive factors for regional osteopenia in women with anorexia nervosa. *Ann Intern Med* 133:790-4
506. **Turner CH** 1998 Three rules for bone adaptation to mechanical stimuli. *Bone* 23:399-407
507. **Grinspoon S, Miller K, Coyle C, et al.** 1999 Severity of osteopenia in estrogen-deficient women with anorexia nervosa and hypothalamic amenorrhea. *J Clin Endocrinol Metab* 84:2049-55
508. **Torstveit MK, Sundgot-Borgen J** 2005 The female athlete triad: are elite athletes at increased risk? *Med Sci Sports Exerc* 37:184-93
509. **Lindsay R, Nieves J, Formica C, et al.** 1997 Randomised controlled study of effect of parathyroid hormone on vertebral-bone mass and fracture incidence among postmenopausal women on oestrogen with osteoporosis. *Lancet* 350:550-5
510. **Kannisto S, Korppi M, Remes K, Voutilainen R** 2000 Adrenal Suppression, Evaluated by a Low Dose Adrenocorticotropin Test, and Growth in Asthmatic Children Treated with Inhaled Steroids. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 85: 6652-657
511. **Guillaume G** 2002 Contribution and limitations of corticosteroid injections for athletes. *J Traumatol Sport* 19:106-113
512. **Wilson A, Sims E, Lipworth B** 1999 Dose response with fluticasone propionate on adrenocortical activity and recovery of basal and stimulated responses after stopping treatment. *Clinical Endocrinology* 50:329-35
513. **Wrong C, Walsh L, Smith C, Wishniewski A, Lewis S, al. e** 2000 Inhaled corticosteroids use and bone mineral density in patients with asthma. *The Lancet* 355:1399-403
514. **Lazarevic M, Skosey J, Djordjevic-Denic G, Swedler W, Zgradic I, Myones B** 1995 Reduction of cortisol levels after single intra-articular and inta-muscular steroid injection. *The American Journal of Medicine* 99:370 - 373
515. **Koehler B, Urowitz M, Killinger D** 1974 The systemic effects of intra-articular corticosteroids. *Journal of Rheumatology* 1:117 - 125
516. **Erturk E, Jaffe G, Barkan A** 1998 Evaluation of the Integrity of the hypothalamic-

- Pituitary-Adrenal axis by Insulin Hypoglycemia Test. *Journal of clinical Endocrinology & Metabolism* 83:2350-2354
517. **Le Roux C, Meeran K, Alaghband-Zadeh J** 2002 Is a 09h00-h serum cortisol useful prior to a short synacthen test in outpatient assessment ? *Annals of Clinical Biochemistry* 39:148 - 150
518. **Deugnier Y, Loreal O, Carre F, et al.** 2002 Increased body iron stores in elite road cyclists. *Medicine Science Sports & Exercise* 34:876-80
519. **Kraemer WJ, French DN, Paxton NJ, et al.** 2004 Changes in exercise performance and hormonal concentrations over a big ten soccer season in starters and nonstarters. *J Strength Cond Res* 18:121-8
520. **Nieman D** 1994 Exercise, upper respiratory tract infections and the immune system. *Medicine & Science in Sports and Exercise* 26:128-129.
521. **Duclos M, Gouarne C, Bonnemaïson D** 2003 Acute and chronic effects of exercise on tissue sensitivity to glucocorticoids. *Journal of Applied Physiology* 94:869-75
522. **Wilber CA, Holland GJ, Madison RE, Loy SF** 1995 An epidemiological analysis of overuse injuries among recreational cyclists. *Int J Sports Med* 16:201-6
523. **Zarkovic M, Ciric J, Stojanovic M, et al.** 1999 Optimizing the Diagnostic Criteria for Standard (250-µg) and low Doses (1-µg) Adrenocorticotropin Tests in the Assessment of Adrenal Function. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 84
524. **Ambrosi B, Barbetta L, Tiziana R, Passini E, Faglia G** 1998 The one microgram adrenocorticotropin test in the assessment of hypothalamic-pituitary-adrenal function. *European Journal of Endocrinology* 139:575-579
525. **Ammari F, Issa B, Millward E, Scanion M** 1996 A comparison between short ACTH and insulin stress tests for assessing hypothalamo-pituitary-adrenal function. *Clinical Endocrinology* 44:473-476
526. **Courtney C, Mc Allister A, Mc Cance D, Bell P, Hadden D, Leslie H** 2000 Comparison of one week 0900 h serum cortisol, low and standard dose Synacthen tests with a 4 to 6 week insulin hypoglycaemia test after pituitary surgery in assessing HPA axis. *Clinical Endocrinology* 53:431-436
527. **Hurel S, Thompson C, Watson M, Harris M, Baylis P, Kendall-Taylor P** 1996 The short Synacthen and insulin stress tests in the assessment of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Clinical Endocrinology* 44:141-146
528. **Drake AJ, Howells RJ, Shield JP, Prendiville A, Ward PS, Crowne EC** 2002 Symptomatic adrenal insufficiency presenting with hypoglycaemia in children with asthma receiving high dose inhaled fluticasone propionate. *Bmj* 324:1081-2
529. **Armstrong RD, English J, Gibson T, Chakraborty J, Marks V** 1981 Serum methylprednisolone levels following intra-articular injection of methylprednisolone acetate. *Ann Rheum Dis* 40:571-4
530. **Mader R, Lavi I, Luboshitzky R** 2005 Evaluation of the pituitary-adrenal axis function following single intraarticular injection of methylprednisolone. *Arthritis Rheum* 52:924-8
531. **Wicki J, Droz M, Cirafici L, Vallotton M, .** 2002 Acute adrenal crisis in a patient treated with intraarticular steroid therapy. *Journal of Rheumatology* 27:510-511
532. **Hollander JL, Brown EM, Jr., Jessar RA, Brown CY** 1951 Hydrocortisone and cortisone injected into arthritic joints; comparative effects of and use of hydrocortisone as a local antiarthritic agent. *J Am Med Assoc* 147:1629-35
533. **Young HH, Ward LE, Henderson ED** 1954 The use of hydrocortisone acetate (compound F acetate) in the treatment of some common orthopaedic conditions. *J Bone Joint Surg Am* 36-A:602-9

534. **Wilson H, Fairbanks R, McEwen C, Ziff M** 1955 Studies on the metabolism of adrenal cortical steroids in the synovial cavity in rheumatoid arthritis. *Ann N Y Acad Sci* 61:502-10
535. **Reeback JS, Chakraborty J, English J, Gibson T, Marks V** 1980 Plasma steroid levels after intra-articular injection of prednisolone acetate in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 39:22-4
536. **Oka M** 1958 Absorption of acetates of hydrocortisone, delta 1-hydrocortisone and cortisone from the joint cavity into the circulation. *J Clin Endocrinol Metab* 18:755-63
537. **Oelkers W** 1996 Adrenal insufficiency. *N Engl J Med* 335:1206-12
538. **Eustace JA, Brophy DP, Gibney RP, Bresnihan B, FitzGerald O** 1997 Comparison of the accuracy of steroid placement with clinical outcome in patients with shoulder symptoms. *Ann Rheum Dis* 56:59-63
539. **Bird HA, Ring EF, Bacon PA** 1979 A thermographic and clinical comparison of three intra-articular steroid preparations in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 38:36-9
540. **Kay J, Findling JW, Raff H** 1994 Epidural triamcinolone suppresses the pituitary-adrenal axis in human subjects. *Anesth Analg* 79:501-5
541. **Esselinckx W, Kolanowski J, Nagant de Deuxchaisnes C** 1982 Adrenocortical function and responsiveness to tetracosactrin infusions after intra-articular treatment with triamcinolone acetonide and hydrocortisone acetate. *Clin Rheumatol* 1:176-84
542. **Thaler LM, Blevins LS, Jr.** 1998 The low dose (1-microg) adrenocorticotropic stimulation test in the evaluation of patients with suspected central adrenal insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 83:2726-9
543. **Reid DM, Patel S, Reid IW, Eastmond CJ, Rennie JA** 1983 Hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis function in patients receiving long-term intra-articular corticosteroids. *Clin Rheumatol* 2:159-61
544. **Wittert GA, Livesey JH, Espiner EA, Donald RA** 1996 Adaptation of the hypothalamopituitary adrenal axis to chronic exercise stress in humans. *Med Sci Sports Exerc* 28:1015-9
545. **Guinot M, Duclos M, Mégret A, Le Bouc Y** 2005 Rôle of plasma cortisol follow up for the detection of glucocorticoid-induced adrenal insufficiency in elite cyclists. *Science & Sports* In press
546. **Price DD, Bush FM, Long S, Harkins SW** 1994 A comparison of pain measurement characteristics of mechanical visual analogue and simple numerical rating scales. *Pain* 56:217-26
547. **Steensberg A** 2003 The role of IL-6 in exercise-induced immune changes and metabolism. *Exerc Immunol Rev.* 9:40-7.
548. **Anderson KE, Rosner W, Khan MS, et al.** 1987 Diet-hormone interactions: protein/carbohydrate ratio alters reciprocally the plasma levels of testosterone and cortisol and their respective binding globulins in man. *Life Sci* 40:1761-8
549. **Adlercreutz H, Harkonen M, Kuoppasalmi K, et al.** 1986 Effect of training on plasma anabolic and catabolic steroid hormones and their response during physical exercise. *Int J Sports Med* 7 Suppl 1:27-8
550. **Walker BR, Best R, Noon JP, Watt GC, Webb DJ** 1997 Seasonal variation in glucocorticoid activity in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab* 82:4015-9
551. **Spano F, Ryan WG** 1984 Tamoxifen for gynecomastia induced by anabolic steroids? *N Engl J Med* 311:861-2
552. **King JA, Rosal MC, Ma Y, et al.** 2000 Sequence and seasonal effects of salivary cortisol. *Behav Med* 26:67-73

553. **Wallace JD, Cuneo RC, Bidlingmaier M, et al.** 2001 Changes in non-22-kilodalton (kDa) isoforms of growth hormone (GH) after administration of 22-kDa recombinant human GH in trained adult males. *J Clin Endocrinol Metab* 86:1731-7
554. **Laure P** 2000 [Doping: epidemiological studies]. *Presse Med* 29:1365-72
555. **Raynaud-Simon A, Perin L, Meaume S, et al.** 2002 IGF-I, IGF-I-binding proteins and GH-binding protein in malnourished elderly patients with inflammation receiving refeeding therapy. *Eur J Endocrinol* 146:657-65
556. **Alen M, Rahkila P, Reinila M, Vihko R** 1987 Androgenic-anabolic steroid effects on serum thyroid, pituitary and steroid hormones in athletes. *Am J Sports Med* 15:357-61
557. **Prummel M, Wiersingia W, Lips P, Sanders G, Sauerwein H** 1991 The course of biochemical parameters of bone turn over during treatment with corticosteroids. *Journal of clinical Endocrinology & Metabolism* 72:382-386
558. **Fink E, Cormier C, Steinmetz P, Kindermans C, Le Bouc Y, Souberbielle JC** 2000 Differences in the capacity of several biochemical bone markers to assess high bone turnover in early menopause and response to alendronate therapy. *Osteoporos Int* 11:295-303
559. **Pocock NA, Eisman JA, Hopper JL, Yeates MG, Sambrook PN, Eberl S** 1987 Genetic determinants of bone mass in adults. A twin study. *J Clin Invest* 80:706-10
560. **Alfredson H, Nordstrom P, Lorentzon R** 1997 Aerobic workout and bone mass in females. *Scand J Med Sci Sports* 7:336-41
561. **Heinonen A, Oja P, Kannus P, Sievanen H, Manttari A, Vuori I** 1993 Bone mineral density of female athletes in different sports. *Bone Miner* 23:1-14
562. **Fehling PC, Alekel L, Clasey J, Rector A, Stillman RJ** 1995 A comparison of bone mineral densities among female athletes in impact loading and active loading sports. *Bone* 17:205-10
563. **Hetland ML, Haarbo J, Christiansen C, Larsen T** 1993 Running induces menstrual disturbances but bone mass is unaffected, except in amenorrheic women. *Am J Med* 95:53-60
564. **Warren MP** 1980 The effects of exercise on pubertal progression and reproductive function in girls. *J Clin Endocrinol Metab* 51:1150-7
565. **Loucks AB, Verdun M, Heath EM** 1998 Low energy availability, not stress of exercise, alters LH pulsatility in exercising women. *J Appl Physiol* 84:37-46
566. **Johansson AG, Forslund A, Hambraeus L, Blum WF, Ljunghall S** 1994 Growth hormone-dependent insulin-like growth factor binding protein is a major determinant of bone mineral density in healthy men. *J Bone Miner Res* 9:915-21
567. **Thorsen K, Nordstrom P, Lorentzon R, Dahlen GH** 1999 The relation between bone mineral density, insulin-like growth factor I, lipoprotein (a), body composition, and muscle strength in adolescent males. *J Clin Endocrinol Metab* 84:3025-9
568. **Cobb KL, Bachrach LK, Greendale G, et al.** 2003 Disordered eating, menstrual irregularity, and bone mineral density in female runners. *Med Sci Sports Exerc* 35:711-9
569. **Morgan JF, Reid F, Lacey JH** 1999 The SCOFF questionnaire: assessment of a new screening tool for eating disorders. *Bmj* 319:1467-8
570. **Stewart AD, Hannan J** 2000 Total and regional bone density in male runners, cyclists, and controls. *Med Sci Sports Exerc* 32:1373-7
571. **Nikander R, Sievanen H, Heinonen A, Kannus P** 2005 Femoral neck structure in adult female athletes subjected to different loading modalities. *J Bone Miner Res* 20:520-8

572. **Warner SE, Shaw JM, Dalsky GP** 2002 Bone mineral density of competitive male mountain and road cyclists. *Bone* 30:281-6
573. **Nordstrom P, Nordstrom G, Lorentzon R** 1998 Massive increase in bone density by high impact loading exercise in a 26-year-old osteoporotic woman on high doses of glucocorticoids. *Osteoporos Int* 8:196
574. **van Coeverden SC, Netelenbos JC, de Ridder CM, Roos JC, Popp-Snijders C, Delemarre-van de Waal HA** 2002 Bone metabolism markers and bone mass in healthy pubertal boys and girls. *Clin Endocrinol (Oxf)* 57:107-16
575. **Rencken ML, Chesnut CH, 3rd, Drinkwater BL** 1996 Bone density at multiple skeletal sites in amenorrheic athletes. *Jama* 276:238-40
576. **Rhee EJ, Oh KW, Lee WY, et al.** 2004 Age, body mass index, current smoking history, and serum insulin-like growth factor-I levels associated with bone mineral density in middle-aged Korean men. *J Bone Miner Metab* 22:392-8
577. **Barrett-Connor E, Goodman-Gruen D** 1998 Gender differences in insulin-like growth factor and bone mineral density association in old age: the Rancho Bernardo Study. *J Bone Miner Res* 13:1343-9
578. **Seck T, Scheidt-Nave C, Leidig-Bruckner G, Ziegler R, Pfeilschifter J** 2001 Low serum concentrations of insulin-like growth factor I are associated with femoral bone loss in a population-based sample of postmenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 55:101-6
579. **Cumming DC, Cumming CE** 2001 Estrogen replacement therapy and female athletes: current issues. *Sports Med* 31:1025-31
580. **Laughlin GA, Yen SS** 1996 Nutritional and endocrine-metabolic aberrations in amenorrheic athletes. *J Clin Endocrinol Metab* 81:4301-9
581. **Weaver CM, Teegarden D, Lyle RM, et al.** 2001 Impact of exercise on bone health and contraindication of oral contraceptive use in young women. *Med Sci Sports Exerc* 33:873-80
582. **Ott SM, Scholes D, LaCroix AZ, Ichikawa LE, Yoshida CK, Barlow WE** 2001 Effects of contraceptive use on bone biochemical markers in young women. *J Clin Endocrinol Metab* 86:179-85
583. **Rome E, Ziegler J, Secic M, et al.** 2004 Bone biochemical markers in adolescent girls using either depot medroxyprogesterone acetate or an oral contraceptive. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 17:373-7
584. **Brooks GA, Mercier J** 1994 Balance of carbohydrate and lipid utilization during exercise: the "crossover" concept. *J Appl Physiol* 76:2253-61
585. **Dill DB, Soholt LF, Oddershede IB** 1976 Physiological adjustments of young men to five-hour desert walks. *J Appl Physiol* 40:236-42
586. **Galbo H, Holst JJ, Christensen NJ, Hilsted J** 1976 Glucagon and plasma catecholamines during beta-receptor blockade in exercising man. *J Appl Physiol* 40:855-63
587. **Galbo H, Holst JJ, Christensen NJ** 1975 Glucagon and plasma catecholamine responses to graded and prolonged exercise in man. *J Appl Physiol* 38:70-6
588. **Howlett K, Febbraio M, Hargreaves M** 1999 Glucose production during strenuous exercise in humans: role of epinephrine. *Am J Physiol* 276:E1130-5
589. **Howlett KF, Watt MJ, Hargreaves M, Febbraio MA** 2003 Regulation of glucose kinetics during intense exercise in humans: effects of alpha- and beta-adrenergic blockade. *Metabolism* 52:1615-20
590. **VanHelder WP, Casey K, Goode RC, Radomski WM** 1986 Growth hormone regulation in two types of aerobic exercise of equal oxygen uptake. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 55:236-9

591. **Harrison MH, Edwards RJ, Leitch DR** 1975 Effect of exercise and thermal stress on plasma volume. *J Appl Physiol* 39:925-31
592. **Kargotich S, Goodman C, Keast D, Morton AR** 1998 The influence of exercise-induced plasma volume changes on the interpretation of biochemical parameters used for monitoring exercise, training and sport. *Sports Med* 26:101-17
593. **Dall R, Lange KH, Kjaer M, et al.** 2001 No evidence of insulin-like growth factor-binding protein 3 proteolysis during a maximal exercise test in elite athletes. *J Clin Endocrinol Metab* 86:669-74
594. **Koivisto VA, DeFronzo R, Hendler R, Felig P** 1982 The difference in insulin sensitivity and metabolic response to acute exercise in trained and sedentary subjects. *Curr Probl Clin Biochem* 11:122-32
595. **Lange KH, Larsson B, Flyvbjerg A, et al.** 2002 Acute growth hormone administration causes exaggerated increases in plasma lactate and glycerol during moderate to high intensity bicycling in trained young men. *J Clin Endocrinol Metab* 87:4966-75
596. **Vogel G** 2004 Mighty mice: inspiration for rogue athletes? *Science* 305:633

# Annexes

## Increased body iron stores in elite road cyclists

YVES DEUGNIER, OLIVIER LORÉAL, FRANÇOIS CARRÉ, ANDRÉ DUVALLET, FABIEN ZOULIM, JEAN PIERRE VINEL, JEAN CLAUDE PARIS, DENIS BLAISON, ROMAIN MOIRAND, BRUNO TURLIN, YVES GANDON, VÉRONIQUE DAVID, ANDRÉ MÉGRET, and MICHEL GUINOT

*Service des Maladies du Foie and INSERM-U522, Laboratoire de Physiologie, Laboratoire d'Anatomie Pathologique B, Département de Radiologie, and Laboratoire de Génétique Moléculaire and UMR 6061 CNRS, CHU Pontchaillou, Rennes, FRANCE; Service de Médecine du Sport, CHU Cochin, Paris, FRANCE; Service d'Hépatologie et de Gastro-Entérologie, CHU Hôtel Dieu and INSERM-U271, Lyon, FRANCE; Service des Maladies de L'Appareil Digestif, CHU Purpan, Toulouse, FRANCE; Service des Maladies de L'Appareil Digestif et de la Nutrition, CHU Claude Huriez, Lille, FRANCE; Service de Gastro-Entérologie, CH, Troyes, FRANCE; and Fédération Française de Cyclisme, Rosny sous Bois, FRANCE*

### ABSTRACT

DEUGNIER, Y., O. LORÉAL, F. CARRÉ, A. DUVALLET, F. ZOULIM, J. P. VINEL, J. C. PARIS, D. BLAISON, R. MOIRAND, B. TURLIN, Y. GANDON, V. DAVID, A. MÉGRET, and M. GUINOT. Increased body iron stores in elite road cyclists. *Med. Sci. Sports Exerc.*, Vol. 34, No. 5, pp. 876–880, 2002. **Background:** One third of French elite road cyclists were found to have hyperferritinemia on antidoping control tests performed during the Tour de France in 1998. **Purpose:** This study was undertaken to determine whether hyperferritinemia corresponded to elevated body iron stores or not and, affirmatively, what were its mechanism, its clinical consequences, and its spontaneous course. **Methods:** 83 elite road male cyclists presenting with hyperferritinemia, defined as serum ferritin level greater than  $300 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , were studied with respect to consumption of iron and other drugs, serum iron tests, *HFE* mutations, and hepatic iron concentration (HIC;  $N < 35 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$  dry weight). **Results:** All cyclists were asymptomatic and had normal physical and cardiac examination. Their median (range) serum ferritin, serum iron, and transferrin saturation levels were  $504 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (306–1671),  $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  (8.5–36.3), and 39% (20–76), respectively. HIC was increased in 24/27 up to  $187 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ . Allelic frequency of the H63D mutation was increased in cyclists when compared to controls ( $P = 0.04$ ). However, iron tests did not differ according to *HFE* genotypes. Most cyclists (89%) had been supplemented with iron. The median iron supplementation was 25.5 g (range: 1.4–336) and correlated well ( $P = 0.002$ ) with serum ferritin. Evolution of serum ferritin levels did not differ whether cyclists had been continuing iron supplementation or not. **Conclusion:** Hyperferritinemia in elite road cyclists accounted for increased body iron stores caused by and persisting after cessation of excessive iron supplementation. Even when mild, iron excess may expose to long-term complications and should be removed, at least at the time when professional cyclists retire. To prevent iatrogenic iron overload, supplementation with iron must be done according to serum ferritin follow-up and not either blindly or on the basis of serum iron determination only. **Key Words:** CYCLISTS, SERUM FERRITIN, IRON OVERLOAD, IRON SUPPLEMENTATION, *HFE* MUTATIONS

In 1998, because of concerns about widespread doping in professional cycling, the French Cycling Organization launched systematic biological control tests in French elite road cyclists and showed that more than one third had hyperferritinemia (A. Mégret and M. Guinot, personal communication). This was quite unexpected because male endurance athletes usually have normal or even low body iron stores (4). The present study was undertaken to determine whether hyperferritinemia in elite road cyclists corresponded to elevated body iron stores or not and, affirmatively, what were its mechanisms, especially with respect to iron supplementation and to the C282Y and H63D mutations on the *HFE* gene involved in genetic hemochromatosis, its clinical consequences, and its spontaneous course.

0195-9131/02/3405-0876/\$3.00/0  
 MEDICINE & SCIENCE IN SPORTS & EXERCISE®  
 Copyright © 2002 by the American College of Sports Medicine

Submitted for publication May 2001.  
 Accepted for publication October 2001.

### MATERIALS AND METHODS

**Subjects.** All French elite road cyclists enrolled into French teams and presenting with serum ferritin levels greater than the upper limit of normal ( $300 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) were contacted by the medical staff of the French Cycling Organization in order to enter the study and to benefit from the following records: (i) consumption of legal (iron, vitamins B and C, analgesics, nonsteroid anti-inflammatory drugs, etc.) and illegal (erythropoietin (EPO), steroids, growth hormone, insulin, etc.) drugs; (ii) physical examination with special reference to general, cutaneous, hepatic, cardiac, and osteoarticular symptoms and signs of iron overload; (iii) determination of serum iron tests (serum iron, transferrin saturation, and serum ferritin); (iv) search for conditions associated with hyperferritinemia, such as hemolysis (blood cell count), increased serum alanine (ALT) and aspartate (AST) transaminases, and inflammatory syndrome (C reactive protein; CRP); (v) testing for C282Y and H63D *HFE* mutations; (vi) 12-lead resting electrocardiogram and

TABLE 1. Main biochemical characteristics in 83 elite road cyclists with hyperferritinemia.

	N	Median	Range
Serum iron ( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; N:13-25)*	83	20	8.5-36.5
Transferrin saturation (%; N:23-45)*	83	39	20-76
Serum ferritin ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ; N:30-300)*	83	504	306-1671
Hepatic iron concentration ( $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ ; N:5-35)*	24 <sup>b</sup>	70	35-187
Serum AST (IU $\cdot\text{L}^{-1}$ ; N:10-50)*	83	32	17-88
Serum ALT (IU $\cdot\text{L}^{-1}$ ; N:10-60)*	83	31	11-120

\* Normal values were supplied by the purveyors of laboratory kits.

<sup>b</sup> The three cyclists with normal hepatic signal on MRI were not included in calculation of median (range).

transthoracic echocardiography; and (vii) assessment of hepatic iron concentration by either magnetic resonance imaging (MRI) in those who had serum ferritin levels comprised between 300 and 800  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , or liver biopsy in those who had either increased serum ALT levels or serum ferritin levels greater than 800  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . In addition, serum ferritin levels determined 12 and 6 months before the study were recorded when available.

Data on drug consumption were recorded using a pre-established questionnaire listing all known drugs used by road cyclists. Daily dosage, duration, and administration mode were documented for each treatment, allowing for the calculation of cumulative dose, especially for iron. Biochemical tests were determined on fasting serum samples after, at least, 3 d without any physical training. Serum iron was assayed using the Feren colorimetric method (Kone Instruments, Norderstedt, Germany). Transferrin saturation was determined on the basis of serum iron and serum transferrin assayed by an immunoturbidimetric method (Kone Instruments). Serum ferritin was determined by an immunoenzymatic method (Kit Abbott Imx B22192, Abbott Laboratories, Abbott Park, IL). *HFE* testing was performed by amplification-restriction in the Laboratory of Molecular Genetics in Rennes. For each subject, three spots of whole blood were done on a filter paper card (Schleicher & Schuell ref. 10539977), stored at room temperature and mailed to Rennes. Then a disk of blood spot of 3 mm diameter was punched out and incubated for 30 min in sterile water to discard red cells. The amplification reaction was then carried out in 50  $\mu\text{L}$  containing 30 pmol of each primer, 200  $\mu\text{M}$  dNTP, and 1  $\mu\text{L}$  of Advantag polymerase 50 X (Clontech, Palo Alto, CA) in  $\text{MgCl}_2$  3 mM, tris HCl pH9 80 mM,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  20 mM. Amplification was performed for 94°C 1 min and 32 cycles (94°C 30 s, 55°C 45 s, 72°C 1 min). The primers were as follows: 5' GCT GAT CTG ACT GCT CTC C 3' and 5' GAA AAA GCA AGT TAA AGC 3'. The conditions used for the PCR product restriction by *RsaI* were as previously described (9). Allelic frequencies of *HFE* mutations in cyclists were compared with those of a control population from Brittany, France, composed of 254 random healthy sedentary adults tested for C282Y and H63D (8). Determination of hepatic iron concentration ( $N < 35 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$  dry weight) was made either by MRI as described previously (7) using 1.5-Tesla devices calibrated according to Gandon et al. (<http://www.radio.univ-rennes1.fr>) or on liver biopsy according to the biochemical method of Bary and Sherlock (2). For echocardiography, M-mode recordings were taken at the tip of the mitral valve

leaflets from the two-dimensional image of the long-axis left ventricle. Measurements of the left ventricular end-diastolic and end-systolic diameters and of interventricular and posterior wall thickness were performed at the peak of the R-wave according to Penn convention guidelines (17).

Descriptive and univariate analysis was performed using StatView 4.5 software (Abacus Concepts Inc, Berkeley, CA). Results are presented as median (range) for quantitative data and as percentage (number) for qualitative data. For serum ferritin, logarithm transformation was performed before statistical analysis because variable distribution was skewed. Wilcoxon test was used to compare values of a qualitative variable between two groups. Correlation between two quantitative data was assessed using Spearman test. Paired *t*-test was performed to compare serum ferritin levels at different times. Distribution of *HFE* genotypes in controls and cyclists were compared using Fisher exact test.

The study was conducted during autumn and winter in 1999 when cyclists were on vacation, usually at home. Six French referral centers—Lille, Lyon, Paris, Rennes, Toulouse, and Troyes—were selected. Cyclists were asked to attend the outpatients clinic of the closest center for clinical and biochemical evaluation. When hyperferritinemia was confirmed, a second visit was proposed for MRI (or liver biopsy), electrocardiogram, and echocardiography. All cyclists gave their written informed consent. The study was approved by the Ethical Committee of Rennes (#99/29-240).

## RESULTS

**Bioclinical data.** A total of 198 cyclists were contacted. Ninety-nine (50%) accepted to enter the study and attended the first visit. Hyperferritinemia was confirmed in 83 who composed the study group. Of these, 30 accepted cardiac evaluation and 27 accepted either MRI ( $N = 25$ ) or liver biopsy ( $N = 2$ ). The 83 cyclists were males aged from 23 to 37 yr (median: 28) with a body mass index ranging from 18.7 to 25.4  $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$  (median: 21.9). All were asymptomatic and had normal physical examination. Their main biochemical results are summarized in Table 1. Serum ferritin was lower than 600  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  in 58/83 (70%), comprised between 600 and 800  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  in 15/83 (18%), and greater 800  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  in 10/83 (12%). Serum iron was increased in 13/83 (16%). Transferrin saturation exceeded 45% in 21/57 (37%). Hepatic iron concentration was normal in 3, comprised between 35 and 80  $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$  in 15, and greater than 80 in 9. Serum ferritin and hepatic iron concentration levels were well correlated ( $r = 0.67$ ,  $P = 0.001$ ) as shown in

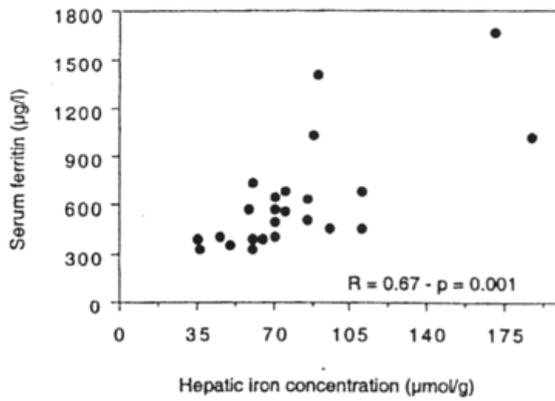


FIGURE 1—Correlation between serum ferritin ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) and hepatic iron concentration ( $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ ).

Figure 1. Serum AST and ALT levels were increased in 11/83 (13%) and 6/83 (7%) cyclists, respectively, and did not correlate with neither serum ferritin levels nor hepatic iron concentration. Blood cell count and CRP were normal in all subjects. Results of *HFE* typing are shown in Table 2. As a whole, 57% of cyclists and 46% of controls had either the C282Y or the H63D mutation (difference not significant). Allelic frequency of H63D was significantly ( $P = 0.04$ ) increased in cyclists when compared with healthy sedentary controls. This was due to homogeneous excess in H63D heterozygotes, H63D homozygotes, and compound heterozygotes (subjects heterozygous for both C282Y and H63D mutations). Iron tests did not differ significantly whether cyclists were wild homozygotes or not (Fig. 2) and carried the H63D mutation or not. In the four compound heterozygotes, transferrin saturation only was increased when compared with cyclists with other genotypes (57% vs 39%,  $P = 0.004$ ).

Most cyclists (73/83, 88%) had been supplemented with iron. However, the amount of supplemented iron could be calculated precisely in 23 cyclists only. The largest part of iron supplementation had been taken orally during training periods and short races. The median cumulative oral iron intake was calculated as 23.4 g (range: 1–320) over a period of 3.9 yr (range: 1.5–15.7). Parenteral supplementation had been administered for shorter periods, especially during

TABLE 2. Distribution of *HFE* genotypes and allelic frequencies of the C282Y and H63D *HFE* mutations in 77 elite road cyclists and 254 controls (8).

	Cyclists (N = 77)		P	Controls (N = 254)	
	%			%	
<i>HFE</i> genotypes					
Wild homozygotes	43	NS	54		
C282Y heterozygotes	13	NS	14		
C282Y homozygotes	0	NS	0		
H63D heterozygotes	34	NS	26		
H63D homozygotes	5	NS	2.5		
Compound heterozygotes	5	NS	3.5		
Allelic frequencies					
C282Y	9.7	ns	9		
H63D	24.7	0.04	17.1		

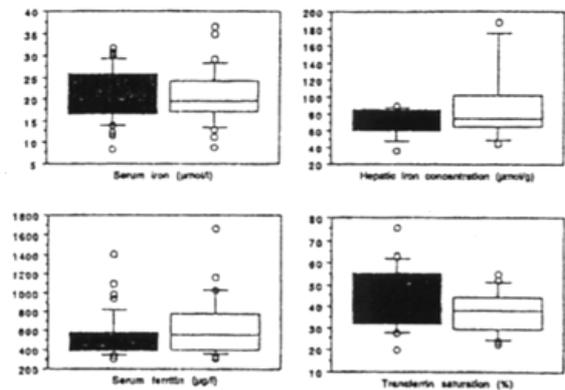


FIGURE 2—Serum iron ( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), transferrin saturation (%), serum ferritin ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), and hepatic iron concentration ( $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ ) according to whether cyclists were free of the C282Y and H63D *HFE* mutations (white boxes) or not (gray boxes). Fifty percent of values are comprised within the box (between the 25th and the 75th percentiles), and the horizontal bar gives the median. Eighty percent of values are comprised between the extremities of vertical bars (between the 10th and 90th percentiles). Extreme values are represented as individual points.

long stage races such as Tour de France and Giro, and accounted for an additional supplementation of 3.2 g (range: 0.4–47.5). As a whole, the median total iron supplementation was calculated as 25.5 g (range: 1.4–336) and correlated well ( $r = 0.66 - P = 0.002$ ) with serum ferritin (Fig. 3). Evolution of serum ferritin levels did not differ whether cyclists had been continuing iron supplementation or not after the discovery of hyperferritinemia (Fig. 4). All cyclists had been taking various vitamin tablets for discontinuous periods over previous years. Seven admitted that they had been treated with erythropoietin without giving details. These cyclists did not differ from others with respect to iron status and blood cell count. No cyclist admitted that he had been treated by steroids, insulin, or growth hormone.

Cardiac evaluation was normal according to training level in all the 30 subjects who accepted to be investigated (16). Left ventricular end-diastolic and end-systolic diameters

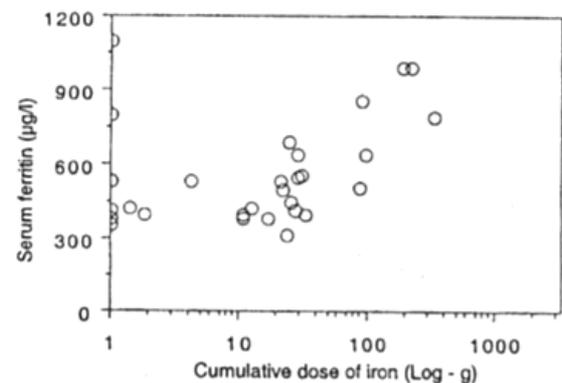


FIGURE 3—Correlation between serum ferritin ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) and cumulative dose of iron (Log, g).

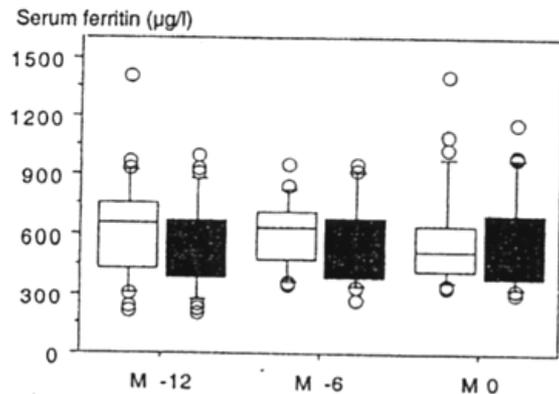


FIGURE 4—Absence of significant difference between serum ferritin levels ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 12 (M 12) and 6 (M 6) months before the study, and at the time (M 0) of the study according to whether cyclists had stopped iron supplementation (white boxes) or not (gray boxes). For significance of boxes, lines, and points, see legend of Figure 1.

were 57.5 mm (range: 46–64) and 36.1 mm (range: 26–46), respectively. Diastolic left ventricular posterior wall and interventricular septal thickness were 9.9 mm (range: 7–15.2) and 11.2 mm (range: 7–16) respectively.

**Histological data.** Two cyclists (TL14 and TR05) had a liver biopsy. Both were asymptomatic, had normal examination, and were free of both *HFE* mutations. TL14 had increased serum iron ( $32 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), transferrin saturation (77%), serum ferritin ( $1050 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), and serum ALT ( $80 \text{IU}\cdot\text{L}^{-1}$ ). He had been treated with oral and intramuscular iron up to 14 months before liver biopsy was performed but was unable to give more details. Liver biopsy was normal except for the presence of a marked parenchymal siderosis mimicking genetic hemochromatosis. Hepatic iron concentration was  $187 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ . TR05 had increased serum ferritin ( $1020 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) only. He had been treated with intramuscular iron for a 1-yr period in 1998 (cumulative dose of 2.5 g) but not supplemented with iron tablets. Liver biopsy was also normal except for the presence of mixed parenchymal and mesenchymal iron overload. Hepatic iron concentration was  $88 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ .

## DISCUSSION

Present data indicate that increased serum ferritin levels detected in French elite road cyclists were related to excessive enteral and parenteral iron supplementation. Indeed, no cause of isolated hyperferritinemia, such as inflammatory syndrome, chronic liver disease, or myolysis, was found whereas almost all cyclists declared that they had been given iron and presented with increased body iron stores well correlated to the amount of supplemented iron.

It is of note that the allelic frequency of the H63D mutation was significantly increased in cyclists when compared with healthy controls (8). However, this increase was slight. Thus, before suggesting that the H63D mutation may give some subtle metabolic advantage predisposing to higher performances, more data are needed on its allelic

frequency in cyclists with normal serum iron tests and in controls matched according to geographical origin. Otherwise, it is unlikely that this mutation had played a significant role in the development of iron overload in cyclists because (i) serum and hepatic iron tests did not differ significantly whether cyclists had the H63D mutation or not and (ii) previous studies have shown that C282Y homozygosity and compound heterozygosity for both mutations were the only *HFE* genotypes associated with significantly increased body iron stores (3,13).

As shown by studies performed in long-distance runners, serum ferritin levels are usually normal in male endurance athletes despite some of them having low serum iron after heavy training (4). In addition, serum ferritin has been shown to correlate negatively with time of physical activity in leisure sportsmen (11), and there is no evidence that iron supplementation results in improving performances in athletes, except in case of iron deficiency (15). Therefore, there are no strong data suggesting that professional cyclists should be regularly and systematically supplemented with iron. The reasons why cyclists were so widely given iron remain unclear. Most cyclists claimed that they had been taking iron for two main reasons: the ability of iron to prevent or reduce leg cramps, especially during long stage races, and the finding of low serum iron on biochemical follow-up. However, such indications of iron supplementation are not supported by scientific studies (15). Moreover, it is well admitted that, unlike serum ferritin, serum iron does not reflect accurately body iron stores and can be either normal or low in patients with iron overload conditions (13,14). Actually, iron is widely considered as an aspecific and safe fortifying drug and widely taken by endurance athletes, most often by self-administration and without any biochemical follow-up. In addition, as declared by defendants involved in the recent "erythropoietin trial" held in Lille, France, and widely reported in the European popular press, most professional cyclists from every country have been using illegal drugs, especially erythropoietin, between 1995 and 1999. In this context, it is likely that many more than seven cyclists in the present study had been treated by erythropoietin and that iron supplementation was also given to enhance EPO-induced erythropoiesis (12) and to prevent iron deficiency related to drug-induced increased erythropoiesis (10).

Because there are no regulation mechanisms of iron excretion from the body (1), it is unlikely that iron excess can be spontaneously and rapidly removed. This is supported by the finding that serum ferritin levels in cyclists who had stopped iron supplementation 1 yr before the study remained stable. However, normalization of body iron stores is necessary because iron excess, even when mild, is associated with higher long-term risks of hepatic and extrahepatic carcinomas (6) and of cardiovascular diseases (5). This implies that iron overloaded cyclists should be followed and that iron excess should be removed in those keeping abnormal iron stores. However, in the present study, all cyclists rejected the proposal of venesection for fear of losing their endurance.

The present demonstration of iatrogenic iron overload in French elite road cyclists should lead (i) to advise cyclists

that supplementation with iron must be done according to serum ferritin follow-up and not either blindly or on the basis of serum iron determination only, (ii) to set up a systematic follow-up of serum ferritin during professional life of cyclists, and (iii) to propose venesection therapy to those who keep increased iron stores at the time of retirement to prevent long-term complications of iron overload.

#### REFERENCES

- ANDREWS, N. C. Disorders of iron metabolism. *N. Engl. J. Med.* 341:1986-1995, 1999.
- BARRY, M., and S. SHERLOCK. Measurement of liver iron concentration in needle-biopsy specimens. *Lancet* 1: 100-103, 1971.
- BURT, M. J., P. M. GEORGE, J. D. UPTON, et al. The significance of haemochromatosis gene mutations in the general population: implications for screening. *Gut* 43:830-836, 1998.
- COOK, J. The effect of endurance training on iron metabolism. *Sem. Hematol.* 31:146-154, 1994.
- DE VALK, B., and J. MARK. Iron, atherosclerosis, and ischemic heart disease. *Arch. Intern. Med.* 159:1542-1548, 1999.
- DEUGNIER, Y., and O. LORÉAL. Iron as a carcinogen. In *Hemochromatosis*, J. Barton and C. Edwards (Eds.). Cambridge: Cambridge University Press, 2000, pp. 239-249.
- GANDON, Y., D. GUYADER, J. F. HEAUTOT, et al. Hemochromatosis: diagnosis and quantification of liver iron with gradient-echo MR imaging. *Radiology* 193:533-538, 1994.
- JEZEQUEL, P., M. BARGAIN, F. LELLOUCHE, F. GEFFROY, and I. DORVAL. Allele frequencies of hereditary hemochromatosis gene mutations in a local population of west Brittany. *Hum. Genet.* 102:332-333, 1998.
- JOUANOLLE, A. M., P. FERGELOT, G. GANDON, J. YAOUANQ, J. Y. LE GALL, and V. DAVID. A candidate gene for hemochromatosis: frequency of the C282Y and H63D mutations. *Hum. Genet.* 100: 544-547, 1997.
- KARLTWASSER, J. P. Erythropoietin and iron. *Kidney Int.* 55:S49-S56, 1999.
- LAKKA, T., K. NYSSONEN, and J. SALONEN. Higher levels of conditioning leisure time physical activity are associated with reduced levels of stored iron in Finnish men. *Am. J. Epidemiol.* 15:148-160, 1994.
- MAJOR, A., F. MATHY-LOIC, R. ROHLING, K. GAUTSKI, and C. BRUNARA. The effect of intravenous iron on the reticulocyte response to recombinant erythropoietin. *Br. J. Haematol.* 98:5-9, 1997.
- MOIRAND, R., A. M. JOUANOLLE, P. BRISSOT, J. Y. LE GALL, V. DAVID, and Y. DEUGNIER. Phenotypic expression of Hfe mutations: a French study of 1110 unrelated iron-overloaded patients and relatives. *Gastroenterology* 116:372-377, 1999.
- MOIRAND, R., A. M. MORTAJI, O. LOREAL, F. PAILLARD, P. BRISSOT, and Y. DEUGNIER. A new syndrome of liver iron overload with normal transferrin saturation. *Lancet* 349:95-97, 1997.
- NIELSEN, P., and D. NACHTIGALL. Iron supplementation in athletes. *Sports Med.* 26:207-216, 1998.
- PELLICIA, A., B. MARON, A. SPATARO, M. PROSCHAN, and P. SPIRITO. The upper limit of physiologic cardiac hypertrophy in highly-trained elite athletes. *N. Engl. J. Med.* 324:1378-1391, 1991.
- SAHN, D. J., A. DEMARIA, J. KISSLO, and A. WEYMAN. Recommendations recording quantification in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements. *Circulation* 58:1072-1083, 1978.

The authors are indebted to Mrs. Michèle Perrin for conducting the protocol as clinical research assistant. They thank Pr. P. Brissot, Pr. D. Guyader, and Dr. F. Lainé for allowing them to study those cyclists they examined.

This study was supported by grants from the French Ministère de la Jeunesse et des Sports, the Fondation Festina and the Association Fer et Foie.

Address for correspondence: Yves Deugnier, M.D., Clinique des Maladies du Foie and INSERM U522, CHU Pontchaillou, 35033 Rennes, France; E-mail yves.deugnier@univ-rennes1.fr.

Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

Science &amp; Sports 20 (2005) 215–217

**SCIENCE  
& SPORTS**
<http://france.elsevier.com/direct/SCISPO/>

Maison de l'Unesco, 20 janvier 2005

## Anomalies de l'axe somatotrope et usage abusif d'hormone de croissance (GH)

### Abnormalities of somatotrope axis and growth hormone doping

Y. Le Bouc <sup>a,b,\*</sup>, M. Guinot <sup>b,c</sup><sup>a</sup> Service des explorations fonctionnelles endocriniennes, hôpital Armand-Trousseau, 26, avenue du Docteur-Netter, 75012 Paris, France<sup>b</sup> Unité Inserm U 515, hôpital Armand-Trousseau, 26, avenue du Docteur-Netter, 75012 Paris, France<sup>c</sup> Antenne médicale de prévention et de lutte contre le dopage, Rhône Alpes, hôpital Sud, CHU de Grenoble, 38042 Grenoble cedex, France

Accepté le 20 janvier 2005

Disponible sur internet le 22 août 2005

#### Résumé

**Objectifs.** – Évaluer les effets potentiels d'un dopage par hormone de croissance.

**Synthèse des faits.** – Si chez les sujets déficitaires en GH, le traitement GH corrige notamment la composition corporelle par diminution de la masse grasse ou par augmentation de la masse maigre musculaire (expliquant la restauration de la force musculaire), l'effet dopant pour les sujets sportifs n'est pas évident à part celui qui s'oppose au catabolisme protéique. Il est possible que les doses de GH utilisées soient en fait supraphysiologiques et potentialisent d'autres substances, telles que les anabolisants stéroïdiens. Les effets secondaires ne sont pas réellement caractérisés, mais sont potentiellement importants tant sur le plan vasculaire que tumoral. L'abus de GH recombinante par les athlètes est difficile à détecter. Elle présente en effet la même séquence que l'hormone naturelle endogène, les concentrations plasmatiques fluctuent physiologiquement de façon importante et sa demi-vie est courte. Enfin, son élimination urinaire est influencée par l'exercice musculaire nécessitant des contrôles sanguins. Cela nécessite donc d'analyser les concentrations sériques de GH (formes moléculaires 22 et 20 kDa ; la sécrétion de cette dernière étant inhibée par la prise exogène de GH 22 kDa recombinante) mais aussi celles des marqueurs secondaires comme notamment l'IGF1, l'IGFBP3 et l'ALS et comparées aux valeurs de références établies en fonction du type d'activité et de l'âge.  
© 2005 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

#### Abstract

**Aims.** – To evaluate the effects of the doping by GH.

**Synthesis of facts.** – If it is well known that GH treatment has benefic effects on body composition in GH deficient patients (decrease in fat mass and increase in muscle mass), nothing has been proved on doping effects in trained subjects, excepted perhaps to avoid protein catabolism. GH amounts use for doping might be supraphysiological doses and might potentiate other substances such as anabolic steroids. Adverse effects are not yet well described, but seem potentially important at vascular and tumoral levels. Recombinant human GH (rhGH) abuse in athletes is actually almost undetectable because rhGH has the same sequence than natural GH, with a very short biological half-life and important fluctuations in plasmatic concentration, moreover urinary GH excretion is modified by physical exercise. It is therefore needful to analyze GH concentration in plasma (22 and 20 kDa molecular forms, the 20 kDa secretion is inhibited by feedback by the exogenous recombinant 22 kDa GH) as well as secondary markers, including IGF1, IGFBP3 and ALS. Reference values should be established taken into account physical activity type, and age.  
© 2005 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

**Mots clés :** Hormone de croissance ; GH ; Insulin-like growth factor I ; Dopage

**Keywords :** Growth hormone; Insulin-like growth factor I; Abuse; Doping

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : [yves.lebouc@trs.aphp.fr](mailto:yves.lebouc@trs.aphp.fr) (Y. Le Bouc).

0765-1597/\$ - see front matter © 2005 Elsevier SAS. Tous droits réservés.  
doi:10.1016/j.scispo.2005.01.015

**1. Introduction**

L'hormone de croissance hypophysaire, sécrétée de façon pulsatile, présente des effets sur le métabolisme protidique (anabolisme), lipidique (lipolyse) et glucidique (hyperglycémie), mais surtout stimule la synthèse hépatique de l'*Insulin-like growth factor I* (IGF1), véritable facteur de croissance postnatal qui présente de plus des effets de croissance et de différenciation cellulaires, des effets anaboliques protidiques, lipogénétiques et hypoglycémisants. Les derniers effets sont heureusement inhibés par les protéines de liaison hautement spécifiques d'IGF (IGFBP) dont la principale l'IGFBP3 est GH dépendante et permet avec l'ALS le stockage sérique assurant une demie-vie (12-15 heures) plus longue que celle de la GH (20 minutes). De plus IGF1 et IGFBP3 sont dépendants de l'âge, du stade pubertaire, c'est-à-dire des stéroïdes sexuels (Fig. 1). Le 2<sup>e</sup> régulateur positif d'IGF1 et d'IGFBP3 est l'insuline et la nutrition qui régule principalement le niveau de récepteur de la GH. D'autres IGFBP sont moins dépendantes de la GH mais sont sous l'influence négative pour certaines (IGFBP1 et BP2) de l'insuline et de la nutrition.

**2. Sport, GH et dopage**

L'influence de l'activité sportive est décrite de façon variable en fonction des études. Elle varie probablement en fonction de l'intensité de l'activité physique et du retentissement de cette activité sur l'alimentation des sportifs. Cela peut avoir une répercussion importante quand on sait que la période pubertaire est primordiale pour l'acquisition du capital osseux.

Or, dans cette période, GH, IGF1 et alimentation sont extrêmement importants. Si une activité sportive trop intense est un risque peu étudié chez l'adolescent sportif, c'est plutôt celui lié à l'abus de GH exogène qui attire le plus d'intérêt à l'heure actuelle. Le dopage par la GH peut effectivement apporter des bénéfices (non encore véritablement démontrés) : anabolisme protidique (surtout associé à des anabolisants stéroïdiens), augmentation du volume musculaire, augmentation de certaines performances cardiaques, ou utilisation pour ses propriétés lipolytiques, notamment pour les culturistes pour ces dernières. Si l'augmentation de la force musculaire d'un dopage par la GH n'est pas vraiment établie chez le sujet sain et sportif, il n'est pas impossible que l'augmentation de l'anabolisme protéique et la lutte contre le catabolisme améliorant la récupération après certains efforts intenses soient le but recherché. De plus, la meilleure disponibilité des fuels énergétiques obtenus par la lipolyse induite par la GH et la diminution du rapport masse grasse/masse maigre, peuvent être les objectifs souhaités chez un sportif d'endurance de haut niveau.

**3. Effets secondaires du dopage GH**

Les risques théoriques d'effets secondaires sont cependant importants si on se réfère aux complications des sujets acromégales (risques cardiovasculaires, tumoraux...) ou aux complications de la GH extractive de cadavre humain (maladie de Creutzfeld-Jacob). D'autres symptomatologies immédiates et réversibles sont observées en cas de doses supraphysiologiques entraînant, du fait de la rétention hydrosodée de la GH, des œdèmes, des céphalées, des syndromes du canal carpien mais aussi des sueurs profuses.

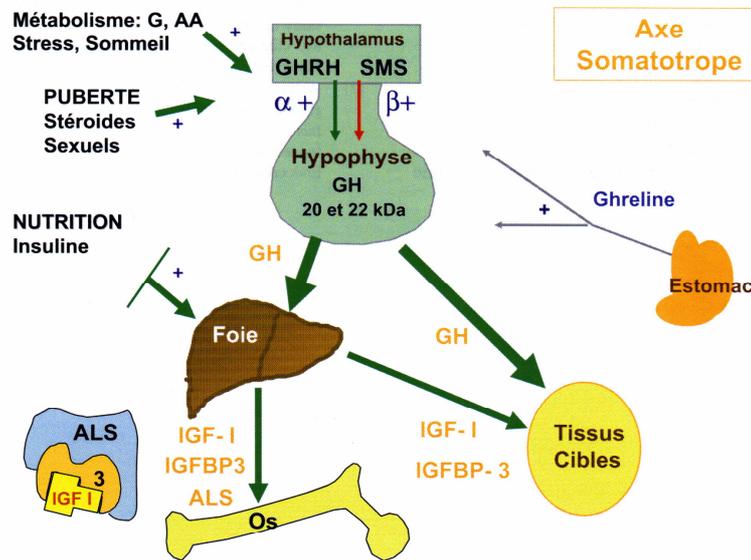


Fig. 1.

tel-00011389, version 1 - 16 Jan 2006

#### 4. Dépistage du dopage GH

Le dépistage de ce dopage GH se heurte à des problèmes physiologiques. La prise exogène concerne un produit recombinant humain, identique à la molécule naturelle et est de plus éliminée rapidement. En effet, la demie-vie de la GH est de 20 à 30 minutes entraînant donc une disparition rapide après la prise (sous-cutanée ou intramusculaire). La sécrétion physiologique de la GH est pulsatile. Un prélèvement unique sanguin peut refléter les concentrations variables allant de l'indélectable à des taux de base élevés 10–20 voire 30 ng/ml qui sont ceux que l'on peut rencontrer chez des sujets porteurs d'une tumeur hypophysaire à GH (acromégalie). Par ailleurs, un stress entraîne une sécrétion ponctuelle de GH avec des valeurs parfois très élevées. Ainsi, l'exercice musculaire lors de l'activité sportive (consommation du glucose sanguin et tendance à la diminution de la glycémie, stress, émotion, douleur : sont des stimulateurs de la sécrétion de la GH) augmente la concentration plasmatique (et urinaire) de GH. Le dépistage urinaire serait critiquable du fait de la modification de l'élimination urinaire par certains types d'activités physiques. Seules les analyses sériques devraient permettre ce dépistage et seuls les paramètres indirects et secondaires à l'action de la GH exogène pourraient être d'utilité : GH 20 kDa/GH 22 kDa (rétrocontrôle négatif au niveau hypothalamique, par la GH 22 k exogène recombinante et effondrement de la forme 20 kDa endogène), IGF1, IGFBP3 ou certains marqueurs de remodelage osseux influencé par la GH. Il faut toutefois disposer de références sportives pour chaque type de sport (endurance, résistance) en fonction de l'âge, du sexe, du niveau et de la période d'activité sportive (entraînement ou période de compétition).

Lors du suivi médical des sportifs de haut niveau, nous avons pu observer les variations des paramètres de l'axe somatotrope en fonction du type de sport (endurance, force-vitesse, contrainte de catégorie de poids) ainsi qu'en fonction de l'âge, du sexe, du niveau et de la période d'activité sportive (entraînement ou période de compétition).

Les concentrations sériques d'IGF1 sont abaissées dans diverses disciplines (surtout d'endurance) évoquant soit une

insuffisance hypothalamohypophysaire fonctionnelle induite par l'activité sportive de haut niveau, soit des restrictions alimentaires trop importantes, soit des syndromes inflammatoires associés. Enfin, des interférences de substances dopantes sont probables en stimulant la somatostatine comme les bêta-agonistes à fortes doses, ou en inhibant la transduction du message GH au niveau du récepteur hépatique comme les glucocorticoïdes ou d'autres non encore identifiées. Dans d'autres cas, des valeurs très élevées d'IGF1 (dans des zones pathologiques de type acromégalic), le plus souvent observées dans les sports de résistance-force-vitesse, ne sont pas le plus souvent ni explicables par l'âge ni par le stade pubertaire de ces sportifs. Une série d'examen peut compléter l'exploration comme le dosage de GH 20 kDa/GH 22 kDa. L'IGFBP3 et surtout l'ALS peuvent venir confirmer les soupçons de dopage GH [1,2]. D'autres substances (GH sécrétagogues, associées à l'insuline, à IGF I et à des stéroïdes anabolisants) sont également suspectées au même titre que les compléments dits alimentaires mais modifiés. Enfin, d'autres variations d'IGFBP ou de variations des paramètres du remodelage osseux (ostéocalcine, CTX...) mériteront plus d'attention dans le futur.

Ainsi, le suivi des sportifs par le dosage d'IGF I peut permettre, bien sûr de suspecter un dopage par GH (ou équivalent), mais permettre aussi un suivi médical pour déceler un déficit induit par une charge de travail trop importante, une alimentation mal adaptée ou une pathologie intercurrente infectieuse ou inflammatoire.

#### Références

- [1] Healy ML, Dall R, Gibney J, Bassett E, Ehrnberg C, Pentecost C, et al. Toward the development of a test for growth hormone (GH) abuse: a study of extreme physiological ranges of GH-dependent markers in 813 elite athletes in the post competition setting. *J Clin Endocrinol Metab* February 2005;90(2):641–9 (Epub 2004 Nov 16).
- [2] Wallace JD, Cuneo RC, Baxter R, Orskov H, Keay N, Pentecost C, et al. Responses of the growth hormone (GH) and insulin-like growth factor axis to exercise, GH administration, and GH withdrawal in trained adult males: a potential test for GH abuse in sport. *J Clin Endocrinol Metab* October 1999;84(10):3591–601.

