

Université de Montréal

**Effets aigus de la chaleur sur la fonction cardiométabolique  
dans le diabète de type 2 et la maladie coronarienne**

Par

**Parya Behzadi**

Département de Pharmacologie et Physiologie

Faculté de médecine

Thèse présentée à la Faculté de médecine en vue de l'obtention du grade de doctorat  
(Ph.D.) en physiologie moléculaire, cellulaire et intégrative – option physiologie  
cardiovasculaire

Juillet 2021

©Parya Behzadi, 2021

Université de Montréal

Département de Pharmacologie et Physiologie, Faculté de médecine

*Cette thèse intitulée :*

**Effets aigus de la chaleur sur la fonction cardiométabolique dans le diabète de type 2 et la maladie coronarienne**

*Présentée par :*

**Parya Behzadi**

*A été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :*

**Jonathan Tremblay**  
Président-rapporteur

**Daniel Gagnon**  
Directeur de recherche

**Réjean Couture**  
Membre du jury

**Sophie Lalande**  
Examineur externe

**François Reeves**  
Représentant du doyen

## Résumé

Les maladies cardiométaboliques sont les principales causes de décès dans le monde, et au Canada elles sont responsables d'environ 700 000 décès par année. Le diabète de type 2 et la maladie coronarienne sont les maladies cardiométaboliques les plus répandues. Malgré des avancées pharmacologiques, la prévalence de ces maladies demeure élevée, ce qui souligne l'importance des thérapies complémentaires qui améliorent le contrôle glycémique ainsi que la fonction vasculaire afin de prévenir les complications liées à ces maladies. Depuis quelques années, l'exposition à la chaleur reçoit une attention accrue pour son potentiel thérapeutique. En outre, des études scientifiques suggèrent que l'exposition à la chaleur pourrait diminuer la glycémie et améliorer la fonction vasculaire. Cependant, le potentiel thérapeutique de l'exposition à la chaleur demeure sous-étudié chez les personnes atteintes du diabète de type 2 ou de la maladie coronarienne.

L'objectif général de cette thèse était d'évaluer les effets aigus de l'exposition à la chaleur sur des marqueurs de la fonction cardiométabolique auprès de gens ayant un diabète de type 2 ou une maladie coronarienne. L'article 1 a déterminé l'effet aigu d'une immersion en eau chaude sur la sensibilité à l'insuline, la fonction vasculaire, les concentrations des protéines de choc thermique plasmatique (eHSP70/90) et intracellulaire (iHSP70/90), les marqueurs inflammatoires (IL-6, IL1-RA, NF $\kappa$ B) ainsi que sur les médiateurs de l'action de l'insuline (IRS-1, GLP-1) comparativement à une immersion thermoneutre au sein d'une population ayant le diabète de type 2. Les résultats démontrent qu'une immersion en eau chaude n'améliore pas la sensibilité à l'insuline, ni la fonction vasculaire et elle n'affecte pas les concentrations de HSP70 / 90 et les marqueurs inflammatoires. L'article 2 a déterminé l'effet aigu d'une exposition dans un sauna Finlandais sur la fonction vasculaire, des marqueurs de dysfonction endothéliale (VCAM-1, ICAM-1) et des marqueurs inflammatoires (IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , CRP) auprès de personnes ayant une maladie coronarienne. Les résultats démontrent qu'une séance de sauna Finlandais améliore la fonction endothéliale et augmente la concentration circulante d'IL-6 sans affecter d'autres marqueurs inflammatoires (IL-10,

TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , CRP) ainsi que des marqueurs de dysfonction endothéliale. Combinées, les deux études de cette thèse démontrent que l'exposition passive à la chaleur n'améliore pas de façon aiguë les marqueurs cardiométaboliques chez les personnes diabétiques de type 2. Par contre, la chaleur exerce un effet bénéfique sur la fonction endothéliale chez les personnes ayant une maladie coronarienne.

**Mots-clés :** diabète de type 2, maladie coronarienne, chaleur passive, fonction endothéliale, fonction microvasculaire, inflammation, protéines de choc thermique, sensibilité à l'insuline, test de tolérance au glucose, dilatation produite par le flux.

## **Abstract**

Cardiometabolic diseases are the leading cause of death globally, and in Canada they are responsible for approximately 700 000 deaths each year. Type 2 diabetes and coronary artery disease are the most prevalent cardiometabolic diseases. Despite advancements in pharmacological treatments, the prevalence of these diseases remains high which underlines the importance of complementary therapies to prevent complications related to these diseases. In recent years, heat exposure has received attention for its therapeutic potential. Studies have demonstrated that heat exposure could be an effective method to decrease glycemia and improve vascular function. However, the therapeutic potential of heat exposure remains understudied in people with type 2 diabetes or coronary artery disease.

The general objective of this thesis was to evaluate the acute effects of heat exposure on cardiometabolic markers in people with type 2 diabetes and coronary artery disease. The first article of this thesis determined the acute effect of hot water immersion on insulin sensitivity, vascular function, plasma (eHSP70 / 90) and intracellular (iHSP70 / 90) heat shock protein concentrations, inflammatory markers (IL- 6, IL1-RA, NF $\kappa$ B) as well



as mediators of insulin action (IRS-1, GLP-1) compared to thermoneutral water immersion in a population with type 2 diabetes. Findings from this study demonstrate that acute hot water immersion does not improve insulin sensitivity, vascular function or affect HSP70 / 90 concentrations and inflammatory markers. The second article of this thesis determined the acute effects of Finnish sauna bathing on vascular function, markers of endothelial dysfunction (VCAM-1, ICAM-1) and inflammatory markers (IL-6, IL-10, TNF-  $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , CRP) in older adults with coronary artery disease. Results from this study demonstrate that one bout of Finnish sauna bathing improves endothelial function and increases the circulating concentration of IL-6 without affecting other markers of inflammation (IL-10, TNF- $\alpha$  IL-1 $\beta$ , CRP) or endothelial dysfunction. Combined, these results show that acute heat exposure does not acutely improve cardiometabolic markers in people with type 2 diabetes. On the other hand, heat exposure has a beneficial effect on endothelial function in people with coronary artery disease.

**Keywords:** type 2 diabetes, coronary artery disease, passive heat, endothelial function, microvascular function, inflammation, heat shock protein, insulin sensitivity, glucose tolerance test, flow-mediated dilation.

# Table des matières

<b>Résumé</b> .....	<b>I</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>II</b>
<b>Table des matières</b> .....	<b>IV</b>
<b>Liste des tableaux</b> .....	<b>VII</b>
<b>Liste des figures</b> .....	<b>VIII</b>
<b>Liste des abréviations</b> .....	<b>XI</b>
<b>Liste des sigles</b> .....	<b>XV</b>
<b>Remerciements</b> .....	<b>XVI</b>
<b>Chapitre 1- Introduction générale</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1. Importance de l'étude</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2. Mise en contexte</b> .....	<b>2</b>
<b>1.3. Objectifs</b> .....	<b>4</b>
<b>1.4. Hypothèses</b> .....	<b>4</b>
<b>Chapitre 2- Revue de littérature</b> .....	<b>5</b>
<b>2.1. Le Diabète</b> .....	<b>5</b>
2.1.1. Définition et prévalence .....	<b>5</b>
2.1.2. Diabète de type 2.....	<b>7</b>
2.1.3. Facteurs de risque du diabète de type 2 .....	<b>9</b>
2.1.4. Diagnostic du diabète de type 2 .....	<b>12</b>
2.1.5. Traitements du diabète de type 2 .....	<b>14</b>
2.1.6. Physiologie et métabolisme du glucose.....	<b>17</b>
2.1.6.1. Insuline et la régulation de la glycémie.....	<b>22</b>
2.1.7. Physiopathologie du diabète de type 2.....	<b>27</b>

2.1.7.1. La résistance à l'insuline.....	27
2.1.7.2 L'effet de la résistance à l'insuline sur la dysfonction vasculaire.....	30
<b>2.2. Les maladies cardiovasculaires.....</b>	<b>31</b>
2.2.1. Définition et prévalence .....	31
2.2.2. Facteurs de risques de la maladie coronarienne.....	33
2.2.3. Traitements des maladies cardiovasculaires.....	37
2.2.4. Physiologie du système vasculaire.....	41
2.2.4.1. Endothélium vasculaire.....	43
2.2.4.2. Stimuli physiologiques du tonus vasculaire .....	44
2.2.4.3. Signalisation du monoxyde d'azote (NO) .....	46
2.2.4.4 Signalisation de facteur hyperpolarisant dérivé de l'endothélium (EDHF) et prostacycline (PGI <sub>2</sub> ).....	50
2.2.5. Pathophysiologie des maladies cardiovasculaires .....	51
2.2.5.1. Dysfonction endothéliale.....	52
2.2.5.2. L'athérosclérose .....	55
2.2.5.3 Mesure de la fonction vasculaire .....	58
2.2.5.3.1 L'effet du diabète de type 2 et la maladie coronarienne sur le FMD et la fonction microvasculaire. ....	59
<b>2.3. La chaleur thérapeutique.....</b>	<b>61</b>
2.3.1. Régulation de la température corporelle.....	61
2.3.2. Chaleur et fonction cardiovasculaire.....	72
2.3.2.1. Débit cardiaque, résistance, fréquence cardiaque .....	73
2.3.2.2. Forces de cisaillement antérograde et rétrograde .....	75
2.3.2.3. La chaleur induit la production de HSP .....	76
2.3.2.3.1. Le rôle des protéines de choc thermique 70 (KDa 70) .....	77
2.3.2.3.2. Le rôle des protéines de choc thermique 90 (KDa 90) .....	80
2.3.2.3.3. L'induction des HSP par la chaleur et leurs effets sur la santé cardiométabolique .....	83

2.3.3. Effets de la chaleur sur la glycémie .....	85
2.3.3.1. Effets chronique et aigu de la chaleur sur la glycémie ..	85
2.3.4. Effets de la chaleur sur la fonction vasculaire .....	91
2.3.4.1. Effet de la chaleur sur la santé cardiovasculaire .....	91
2.3.4.1.1 Fonction macrovasculaire.....	92
2.3.4.1.2. Fonction microvasculaire .....	97
2.3.4.1.3. Inflammation et ischémie reperfusion .....	99
<b>Chapitre 3- Méthode et résultats .....</b>	<b>103</b>
<b>3.1 Article de thèse #1 .....</b>	<b>103</b>
<b>3.2 Article de these #2.....</b>	<b>139</b>
<b>Chapitre 4- Discussion de thèse .....</b>	<b>160</b>
<b>4.1. Discussion.....</b>	<b>160</b>
<b>4.2. Limites expérimentales de nos études.....</b>	<b>169</b>
<b>4.3. Prochaine étape .....</b>	<b>171</b>
<b>4.4. Conclusion générale .....</b>	<b>171</b>
<b>Bibliographie.....</b>	<b>173</b>
<b>Annexe.....</b>	<b>212</b>

## Liste des tableaux

### Thèse

Tableau 1: Les critères de diagnostic de prédiabète et de diabète de type 2. ....	13
Tableau 2 : Classes de médicaments pour le traitement de l'hyperglycémie pour les personnes ayant le diabète de type 2.....	17
Tableau 3: Les classes de médicaments pour les maladies cardiovasculaires. ....	38

### Article #1

Tableau1: Participant characteristics.....	129
Tableau 2: Insulin sensitivity indices during an OGTT performed after thermoneutral or hot water immersion.....	130
Tableau 3: Physiological variables at the time of FMD measurement before (pre) and after (post) thermoneutral or hot water immersion.....	131
Tableau 4: Primer sequences used for mRNA expression analysis of HSP70, HSP90 and HPRT.....	132

### Article #2

Tableau 1: Participant characteristics.....	156
Tableau 2: Physiological outcomes before (pre) and after (post) Finnish sauna bathing.....	157

# Liste des figures

## Thèse

Figure 1: Représentation graphique de la prévalence du diabète de type 1 et 2 diagnostiquée au Canada selon l'âge et le sexe pour l'année 2013-2014..	7
Figure 2: Représentation graphique de l'évolution du diabète de type 2..	9
Figure 3: Représentation schématique des facteurs de risque impliqués dans le développement du diabète de type 2.....	12
Figure 4: Représentation schématique de l'action du pancréas sur l'homéostasie du glucose..	21
Figure 5: Représentation schématique de la production de l'insuline par le pancréas..	23
Figure 6 : Représentation schématique du récepteur d'insuline.....	24
Figure 7: Représentation schématique de l'absorption du glucose par l'insuline dans une cellule du muscle squelettique.....	26
Figure 8: Représentation schématique des mécanismes qui induisent la résistance à l'insuline.....	28
Figure 9: Présentation graphique de la prévalence de la maladie coronarienne et de l'infarctus du myocarde au Canada.....	32
Figure 10: Représentation schématique des facteurs de risque impliqués dans le développement des maladies cardiovasculaires.....	37
Figure 11: Représentation schématique des types de forces hémodynamiques exercées sur les cellules de la paroi vasculaire.....	46
Figure 12: Représentation schématique du structure et la synthèse de l'enzyme NOS endothéliale.....	48
Figure 13: Représentation schématique de la signalisation de la synthèse du monoxyde d'azote.....	49
Figure 14: Représentation schématique des facteurs qui induisent la dysfonction endothéliale.....	55

Figure 15: Représentation schématique du développement de l'athérosclérose..... 57

Figure 16 : Représentation schématique de la régulation de température interne lors de l'exposition à la chaleur.. ..... 65

Figure 17: Représentation schématique des mécanismes impliqués dans la formation de la sueur à partir d'une cellule claire.. ..... 68

Figure 18: Représentation schématique des mécanismes impliqués dans la vasodilatation cutanée..... 70

Figure 19: Représentation schématique des réponses cardiovasculaires lors de l'exposition à la chaleur.. ..... 75

Figure 20: Représentation graphique du cycle de HSP70.....78

Figure 21: Représentation graphique du rôle de HSP70 circulant.. ..... 80

Figure 22: Représentation graphique du cycle de HSP90.. ..... 82

Figure 23: Représentation graphique du pourcentage de dilatation produite par le flux avant et après l'exposition à la chaleur chez des personnes en santé, ayant une maladie coronarienne ou ayant le diabète de type 2.... ..... 167

**Article #1**

Figure 1: Thermoregulatory and hemodynamic responses during thermoneutral and hot water immersion in adults with type 2 diabetes. ....133

Figure 2: Brachial artery blood flow, vascular conductance and shear rates in response to thermoneutral and hot water immersion in adults with type 2 diabetes. ....134

Figure 3: Intracellular (iHSP) and circulating (eHSP) concentrations of heat shock proteins (HSP) 70 and 90 before, during and after thermoneutral and hot water immersion in adults with type 2 diabetes..... 135

Figure 4: Fold change in total mRNA levels of heat shock proteins (HSP) 70 and 90 within peripheral blood mononuclear cells before, during and after thermoneutral and hot water immersion in adults with type 2 diabetes.....136

Figure 5: Circulating concentrations of interleukin 6 (IL-6), interleukin 1 receptor antagonist (IL1-RA), and glucagon-like peptide 1 (GLP-1), as well as intracellular phosphorylated nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NFkB) before, during and after thermoneutral and hot water immersion in adults with type 2 diabetes. ....137

Figure 6: Plasma glucose and insulin concentrations in response to thermoneutral and hot water immersion and an oral glucose tolerance test (top panels), as well as area under the curve (AUC) values and insulin sensitivity (bottom panels) during an oral glucose tolerance test performed after thermoneutral and hot water immersion in adults with type 2 diabetes.....138

**Article #2**

Figure1: Thermoregulatory and hemodynamic variables during Finnish sauna bathing.....158

Figure 2: Indices of vascular function measured before (pre) and after (post) Finnish sauna bathing.....159



## Liste des abréviations

<b>ACh</b>	Acétylcholine
<b>ADP</b>	Adénosine diphosphate
<b>AQP5</b>	Aquaporine 5
<b>AMPc</b>	Adénosine monophosphate cyclique
<b>Ang2</b>	Angiotensine II
<b>ANO1</b>	Canal anoctamine 1
<b>ATP</b>	Adénosine triphosphate
<b>BH4</b>	Tétrahydrobioptérine
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	Ion calcium
<b>[Ca<sup>2+</sup>]</b>	Concentration calcique intracellulaire
<b>Ca<sub>T</sub></b>	Canal calcique transitoire
<b>Ca<sub>L</sub></b>	Canal calcique lent
<b>Ca<sub>v</sub></b>	Canal calcique voltage-dépendant
<b>CMLV</b>	Cellule musculaire lisse vasculaire
<b>Cl<sup>-</sup></b>	Ion clore
<b>CNBD</b>	Domaine de liaison aux nucléotides
<b>COX</b>	Cyclo-oxygénase
<b>CRP</b>	Protéine C-réactive
<b>DRG</b>	Ganglions de la racine dorsale
<b>DH</b>	Corne dorsale de la moelle épinière
<b>DLK-1</b>	Dual leucine portant la kinase-1
<b>DPP-IV</b>	Dipeptidyl-peptidase-4
<b>eNOS</b>	Oxyde nitrique synthase endothéliale
<b>EET</b>	Acide eicosatriénoïque
<b>Erk1/2</b>	Extracellular signal-Regulated Kinase 1/2
<b>ET-1</b>	Endothéline 1
<b>ET-A</b>	Récepteur de l'endothéline-1 de type A

<b>FAD</b>	Flavine adénine dinucléotide
<b>FC</b>	Fréquence cardiaque
<b>FMD</b>	Dilatation produite par le flux
<b>FMN</b>	Flavine mononucléotide
<b>GCs</b>	Guanylate cyclase soluble
<b>GLP-1</b>	Glucagon-like peptide-1
<b>GLUT2</b>	Transporteurs de glucose 2
<b>GLUT4</b>	Transporteurs de glucose 4
<b>HbA1c</b>	Hémoglobine glycosylée
<b>HCN</b>	Hyperpolarization activated channels
<b>HDL</b>	Lipides de haute densité
<b>HMG-CoA</b>	Hydroxyméthylglutaryl-CoA réductase
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Eau
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peroxyde d'hydrogène
<b>HSE</b>	Heat shock element
<b>HSF1</b>	Facteur de transcription de choc thermique
<b>HSP</b>	Protéines de choc thermique
<b>ICAM-1</b>	Molécules d'adhésion intercellulaire
<b>If</b>	Courant funny
<b>IKK</b>	Phosphorylation de la kinase de NF $\kappa$ B
<b>IL-1</b>	Interleukine 1
<b>IMC</b>	Indice de masse corporelle
<b>IL-6</b>	Interleukine 6
<b>iNOS</b>	Oxyde nitrique synthase inductible
<b>IP3</b>	Inositol-1,4,5 trisphosphate
<b>JNK</b>	c-Jun N-terminal kinases
<b>K<sup>+</sup></b>	Ion potassium
<b>K<sub>ATP</sub></b>	Canal potassique sensible à l'ATP

<b>KNK437</b>	Inhibiteur de protéine de choc thermique
<b>LDL</b>	Lipoprotéine de basse densité
<b>LDL-ox</b>	Lipoprotéine oxydée de faible densité
<b>L-NAME</b>	LN <sup>G</sup> -Nitro arginine methyl ester
<b>L-NNA</b>	N $\omega$ -Nitro-L-arginine
<b>Lox1</b>	Récepteur 1 des lipoprotéines oxydées de basse densité de type lectine
<b>LPB</b>	Noyau parabrachial latéral
<b>MAPK</b>	Mitogen-activated protein kinase
<b>MMP</b>	Métalloprotéases matricielles
<b>MCP-1</b>	Chimioattractif monocyttaire 1
<b>NADPH</b>	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
<b>nNOS</b>	Oxyde nitrique synthase neuronal
<b>NTD</b>	Domaine N-terminal
<b>NF<math>\kappa</math>B</b>	Nuclear factor-kappa B
<b>NGF</b>	Facteur de croissance nerveuse
<b>NKCC1</b>	Cotransporteur Chlorure de sodium-potassium
<b>NTG</b>	Nitroglycérine
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxygène
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	Superoxyde
<b>OGTT</b>	Test oral de tolérance au glucose
<b>ONOO<sup>-</sup></b>	Peroxynitrite
<b>PAI-1</b>	Plasminogène-1
<b>PAO</b>	Zone pré-optique
<b>PBMC</b>	Cellules mononucléées du sang périphérique
<b>PI3K</b>	Phosphoinositide 3-kinase
<b>PGI<sub>2</sub></b>	Prostacycline
<b>PIP2</b>	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate

<b>PKA</b>	Protéine kinase A
<b>PKG</b>	Protéine kinase G
<b>PLC</b>	Phospholipase C
<b>Q</b>	Débit cardiaque
<b>r</b>	Rayon
<b>RE</b>	Réticulum endoplasmique
<b>ROS</b>	Espèces réactives de l'oxygène
<b>sHSP</b>	Les petites protéines de choc thermique
<b>SGLT-2</b>	Sodium-glucose cotransporter-2
<b>SP</b>	Peptide signal
<b>TGF-β</b>	Facteur de croissance transformant-bêta
<b>TLR</b>	Récepteurs de type Toll
<b>TG</b>	Ganglions du trijumeau
<b>TNF-α</b>	Facteur de nécrose tumorale alpha
<b>TRP</b>	Canaux cationiques de potentiel de récepteur transitoire
<b>TRPM</b>	Transient receptor potential melastatin
<b>TRPV1</b>	Transient receptor potential vanilloïde 1
<b>TRK</b>	Tropomyosine récepteur kinase A
<b>UCN3</b>	Urocortine-3
<b>VES</b>	Volume d'éjection systolique
<b>VCAM-1</b>	Protéine d'adhésion des cellules vasculaires 1
<b>VIP</b>	Polypeptide intestinal vasoactif
<b>ω req</b>	Moiteur de la peau

## Liste des sigles

<b>AHEAD</b>	Action for Health in Diabetes
<b>BARI 2D</b>	Étude Bypass Angioplasty Revascularization Investigation
<b>DPP</b>	Diabetes Prevention Program
<b>FREEDOM</b>	Future Revascularization Evaluation in Patients with Diabetes Mellitus
<b>INTERHEART</b>	The Effect of Potentially Modifiable Risk Factors Associated with Myocardial Infarction
<b>Look AHEAD</b>	Action for Health in Diabetes
<b>OMS</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>PREDIMED</b>	Prevention with Mediterranean Diet
<b>UKPDS</b>	Étude prospective britannique sur le diabète

## Remerciements

J'aimerais d'abord et avant tout remercier mon directeur de thèse, le Dr Daniel Gagnon, pour son soutien exceptionnel, ses précieux conseils, sa disponibilité et sa patience dont j'ai bénéficié tout au long de mon parcours. Un remerciement aux membres de mon laboratoire, le Dr Nicholas Ravanelli, le Dr Hugo Gravel, la Dre Georgia Chaseling, Hadiatou Barry, Amélie Debray et Céline Ferland, pour leur aide à la réalisation de cette thèse ainsi qu'à leurs conseils durant mon parcours. Je tiens aussi à remercier le Dr Florent Besnier pour ses encouragements et ses conseils dans la rédaction de cette thèse.

Je tiens à remercier les Drs Éric Thorin et Martin Sirois pour leurs suivis et leurs commentaires constructifs en tant que parrains. J'aimerais également remercier les membres du laboratoire du Dr Sirois, spécifiquement le Dr Paul-Eduard Neagoe, pour leur aide et leurs conseils avec les analyses cellulaires.

Je remercie également tous les membres du jury de thèse, les Drs Jonathan Tremblay, Réjean Couture et Sophie Lalande, pour avoir accepté d'évaluer ma thèse et pour le temps consacré à ce travail ainsi que le Dr François Reeves à titre de représentant du doyen.

Mes remerciements vont également aux études supérieures postdoctorales (ESP) dont j'ai été l'heureuse boursière. Je remercie aussi tous les membres de la recherche du Centre ÉPIC ainsi que tous les participants qui ont accepté de se porter volontaires pour prendre part aux études de ma thèse.

J'adresse également mes remerciements à ma famille et notamment à mes parents et à ma sœur. Merci de m'avoir toujours encouragée, de m'avoir poussée à donner le meilleur de moi-même. Je vous en suis éternellement reconnaissante.

# Chapitre 1- Introduction générale

## 1.1. Importance de l'étude

Les maladies cardiométaboliques sont une combinaison d'un dysfonctionnement métabolique, principalement caractérisé par le diabète de type 2, et d'un dysfonctionnement vasculaire, caractérisé par les maladies cardiovasculaires. Dans le monde, le diabète de type 2 et les maladies cardiovasculaires sont parmi les maladies chroniques les plus répandues ayant des conséquences sociales et économiques considérables. Ces maladies sont parmi les principales causes d'hospitalisation et de décès au Canada et dans le monde (Sakakibara et al., 2019). Il est estimé, qu'annuellement, ces maladies représentent plus de 700 000 décès au Canada et des coûts de 34 milliards de dollars pour le système de la santé (Sakakibara et al., 2019).

Des stratégies pharmacologiques et non pharmacologiques sont établies pour traiter les maladies cardiométaboliques. Malgré ces stratégies, le pronostic de complications liées à ces maladies reste élevé. Un élément essentiel pour lutter contre ce défi consiste à mettre l'accent sur les stratégies de prévention existantes et à identifier de nouvelles stratégies de prévention pour réduire l'incidence des maladies cardiométaboliques. Depuis quelques années, l'exposition à la chaleur a reçu une attention accrue pour son potentiel thérapeutique. En outre, des études suggèrent que l'exposition à la chaleur pourrait améliorer la santé cardiométabolique. Une étude récente a observé des améliorations au niveau de marqueurs métaboliques auprès de femmes obèses atteintes du syndrome des ovaires polykystiques à la suite d'une intervention de bain chaud (~40°C, 3-4x/semaine). Une augmentation de protéines de choc thermique (HSP) dans le tissu adipeux sous cutané était associée à une réduction de l'inflammation et une amélioration de la sensibilité à l'insuline (Ely, Clayton, et al., 2019). Chez cette même population, l'intervention de bain chaud de 8 semaines a également amélioré la fonction endothéliale et a induit une protection de l'endothélium contre un stress d'ischémie/reperfusion (Ely, Francisco, et al., 2019). Malgré ces résultats prometteurs, peu d'études ont évalué ces mécanismes dans des populations ayant des maladies cardiométaboliques.

## 1.2. Mise en contexte

Une étude prospective a évalué la relation entre la fréquence et la durée d'utilisation du sauna Finlandais et le risque de mort cardiaque subite. Plus de 2000 hommes finlandais d'âge moyen (42 à 60 ans), certains ayant des maladies cardiométaboliques (infarctus du myocarde et diabète de type 2), ont été divisés en 3 groupes selon leur fréquence et durée d'utilisation du sauna Finlandais. Après un suivi de 20 ans, il a été observé qu'une utilisation plus fréquente (>3 fois par semaine) et plus longue (>19 minutes) du sauna Finlandais était associée à un risque réduit de mortalité cardiaque (Laukkanen et al., 2015). Une deuxième étude prospective a évalué la fréquence d'utilisation du bain chaud japonais (*onsen*, ~40°C) et l'incidence de maladies cardiovasculaires. Dans cette étude, plus de 6000 hommes et femmes d'origine japonaise et d'âge moyen (40 à 59 ans) ont été divisés en 3 groupes selon la fréquence d'immersion en eau chaude (1x/semaine, 1-2x/semaine, 3-4x/semaine). Cette étude a observé que le groupe utilisant un bain chaud 3-4x/semaine avait un risque moins élevé de développer une maladie cardiovasculaire lors d'une période de suivi de 20 ans (Ukai et al., 2020). Un impact spécifique de l'exposition à la chaleur sur le contrôle du diabète a été démontré pour la première fois par Hooper (Hooper, 1999) qui a mené une intervention de bain chaud pendant 3 semaines (~40°C, 6x/semaine) sur huit participants d'âge moyen (43 à 68 ans) atteints du diabète de type 2. Après l'intervention, une diminution de la glycémie de 20% (10.10 mmol/l à 8.83 mmol/l) et de l'hémoglobine glyquée de 1% (11.3 % à 10.3 %) a été observée dans cette population.

Quoique ces études démontrent des bienfaits potentiels de l'exposition à la chaleur pour la santé cardiométabolique, les mécanismes physiologiques qui sous-tendent ces observations demeurent peu étudiés auprès de populations symptomatiques. Ces mécanismes potentiels sont multiples. Lors de l'exposition à la chaleur, le débit cardiaque et le flux sanguin cutané augmentent ce qui a pour effet d'exposer la paroi interne des artères à de plus grandes contraintes de cisaillement (Carter et al., 2014; Tinken et al.,



2009). Ces réponses physiologiques sont associées à une amélioration de la dilatation dépendante de l'endothélium, ainsi qu'à une diminution de la rigidité artérielle, de l'épaisseur de l'intima média et de la pression artérielle chez de jeunes adultes sédentaires effectuant 36 sessions sur 8 semaines d'immersion en eau chaude (4-5x/semaine) (Brunt, Eymann, et al., 2016; Brunt, Howard, et al., 2016). L'exposition à la chaleur augmente également les niveaux de HSP. Ces protéines jouent plusieurs rôles physiologiques, notamment au niveau de la fonction vasculaire et de l'inflammation (García-Cardena et al., 1998; Nathan et al., 1993). Par exemple, la HSP90 est un cofacteur essentiel pour l'oxyde nitrique synthase endothéliale (eNOS), l'enzyme qui synthétise le monoxyde d'azote au niveau de l'endothélium (García-Cardena et al., 1998; Gratton et al., 2000). Dans la famille des HSP70, le membre la plus inducible est HSP72 encore appelé sous le nom de HSP70 (Daugaard et al., 2007). Des études animales démontrent également qu'une augmentation de la HSP72 par l'exposition à la chaleur diminue les marqueurs inflammatoires et améliore la sensibilité à l'insuline (Anisha et al., 2009; J. Chung et al., 2008). Une augmentation des niveaux de HSP par l'exposition à la chaleur pourrait représenter une cible thérapeutique pour diminuer l'inflammation et le stress oxydatif afin de réduire ou de prévenir les complications liées aux maladies cardiométaboliques.

Toutefois, il reste à évaluer si ces réponses physiologiques sont observées chez les personnes ayant un diabète de type 2 ou une maladie cardiovasculaire, afin de proposer l'exposition à la chaleur comme une intervention pour améliorer la santé cardiométabolique de ces populations. Ce projet de doctorat s'articule autour de deux études cliniques qui avaient comme objectif d'évaluer les réponses physiologiques aiguës de la chaleur sur des marqueurs des fonctions cardiométaboliques. À des fins thérapeutiques, nous utilisons deux types d'exposition à la chaleur (immersion en eau chaude et sauna Finlandais), chez une population ayant une maladie cardiométabolique.

### 1.3. Objectifs

L'objectif général de cette thèse était d'évaluer les effets aigus de l'exposition à la chaleur sur des marqueurs de la fonction cardiométabolique auprès de populations ayant une maladie cardiométabolique. Pour répondre à notre objectif nous avons réalisé 2 études expérimentales. Les résultats des études sont présentés sous forme d'articles.

Pour **la première étude**, l'objectif primaire était de déterminer si une immersion en eau chaude améliore la sensibilité à l'insuline d'adultes atteints d'un diabète de type 2. L'objectif secondaire était d'évaluer si l'immersion en eau chaude améliore la fonction endothéliale au sein de cette population. L'objectif tertiaire était d'évaluer si une exposition à la chaleur améliore la fonction microvasculaire. L'objectif quaternaire était de caractériser et documenter les changements de protéines de choc thermique (HSP70/90), de marqueurs inflammatoires (IL-6, IL-1RA, NF $\kappa$ B) et de médiateurs de l'action de l'insuline (IRS-1, GLP-1) provoqués par l'immersion en eau chaude.

Pour **la deuxième étude**, l'objectif primaire était de déterminer si une exposition à un sauna Finlandais améliore la fonction endothéliale d'adultes atteints d'une maladie coronarienne. L'objectif secondaire était d'évaluer si une exposition à un sauna Finlandais améliore la fonction microvasculaire au sein de cette population. L'objectif tertiaire était de caractériser les changements de marqueurs de dysfonction vasculaire (VCAM-1, ICAM-1) et de marqueurs inflammatoires (IL-6, IL-1RA, IL-10, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , CRP) après un sauna Finlandais.

### 1.4. Hypothèses

Pour **la première étude**, l'hypothèse primaire était qu'une immersion en eau chaude améliore la sensibilité à l'insuline lors d'un test de tolérance au glucose effectué 1h après l'exposition à la chaleur. L'hypothèse secondaire était que l'immersion en eau chaude augmente la vasodilatation de l'artère brachiale induite par une augmentation de

la contrainte de cisaillement. L'hypothèse tertiaire était que l'immersion en eau chaude améliore l'hyperémie réactive de l'avant-bras. L'hypothèse quaternaire était qu'une immersion en eau chaude augmente le niveau intracellulaire des protéines de choc thermique 70 (iHSP70) et 90 (iHSP90) et le substrat 1 du récepteur de l'insuline (IRS-1) dans les cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC) ainsi que le *Glucagon-like peptide-1* (GLP-1), les interleukines (IL) 6 et 1-RA plasmatique et diminue le niveau circulant des HSP70 et 90 ainsi que la concentration intracellulaire de NF $\kappa$ B.

Pour **la deuxième étude**, l'hypothèse primaire était qu'une exposition à un sauna Finlandais augmente la vasodilatation de l'artère brachiale induite par une augmentation de la contrainte de cisaillement. L'hypothèse secondaire était que l'exposition à un sauna Finlandais améliore l'hyperémie réactive de l'avant-bras. L'hypothèse tertiaire était que l'exposition à un sauna Finlandais diminue la concentration circulante de marqueurs de la dysfonction endothéliale (VCAM-1, ICAM-1) et de cytokines inflammatoires (IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , CRP) et augmente la concentration circulante de cytokines anti-inflammatoires (IL-1RA, IL-10).

## **Chapitre 2- Revue de littérature**

### **2.1. Le Diabète**

#### **2.1.1. Définition et prévalence**

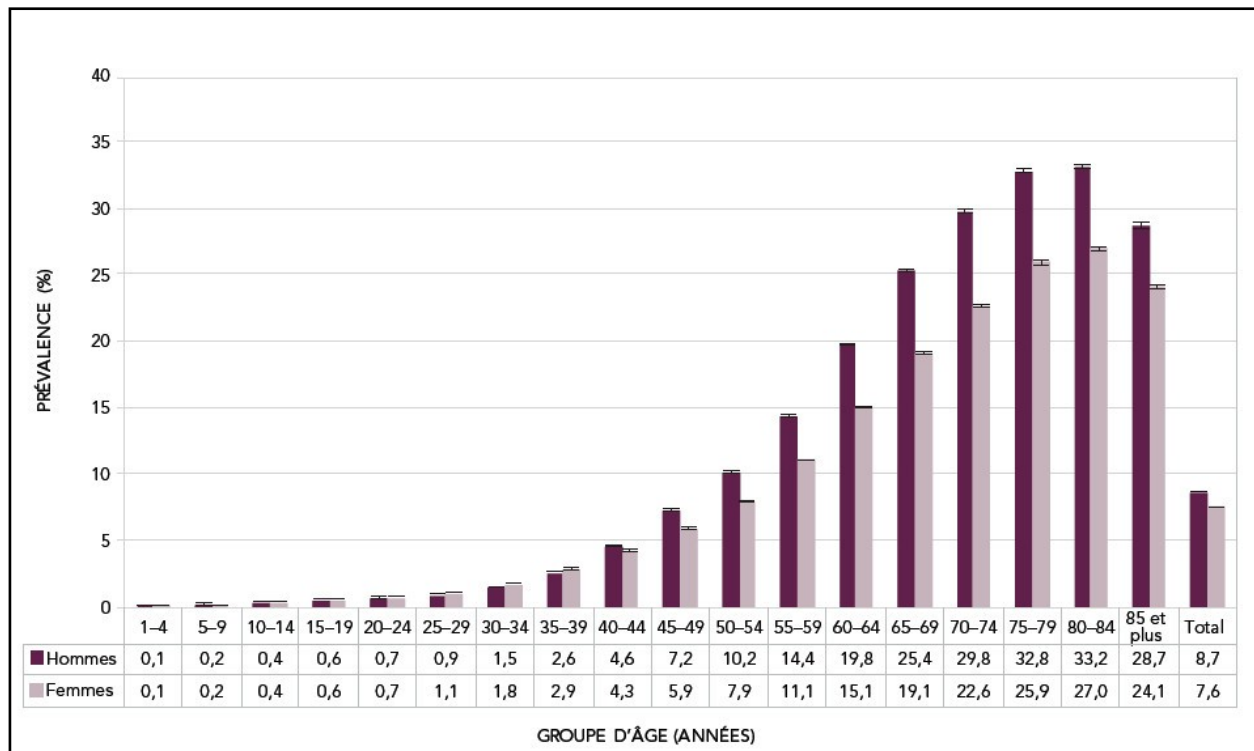
Le diabète est défini comme une maladie métabolique caractérisée par une hyperglycémie, attribuable à une résistance à l'insuline, à une production réduite d'insuline ou les deux (Lipsombe, 2018). Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) le diabète comprend 3 types : le diabète de type 1, le diabète de type 2 et le diabète gestationnel (OMS, 2020). Le diabète de type 1, représentant 10% de tous les cas de diabète, est une maladie auto-immune causée par une attaque du système immunitaire contre les cellules  $\beta$  du pancréas qui sont responsables de produire de l'insuline.

L'apoptose des cellules  $\beta$  pancréatiques serait donc responsable de la production réduite d'insuline, le régulateur principal de la glycémie (FID, 2019).

Le diabète de type 2 est une maladie chronique caractérisée par le développement d'une résistance à l'insuline et d'une hyperglycémie. Cette maladie est la conséquence d'une perte de fonctionnalité des cellules  $\beta$  pancréatiques. Le diabète de type 2 apparaît généralement chez les adultes à un âge avancé et il est de plus en plus fréquent chez des adolescents. Le diabète de type 2 touche davantage les personnes obèses ou ayant un surplus de poids. Le diabète gestationnel se définit par une hyperglycémie qui survient pendant la grossesse et qui disparaît généralement après la grossesse (FID, 2019). Les personnes ayant un diagnostic de diabète sont deux fois plus susceptibles de mourir prématurément que les personnes non-diabétiques (Diabète Canada, 2021). Le diabète entraîne également des coûts financiers pour le système de la santé et même pour les personnes qui en sont atteintes. Pour l'année 2021, le système de santé du Canada estime devoir absorber un coût total de 3.8 milliards de dollars pour le traitement du diabète (Diabète Canada, 2021). De plus, il est estimé que les personnes diabétiques devront dépenser plus de 3% de leur revenu sur leur traitement pour le diabète (Diabète Canada, 2021).

Selon la fédération mondiale du diabète, 285 millions de personnes étaient atteintes du diabète en 2009 et il est estimé que ce chiffre pourrait augmenter à 578 et 700 millions de personnes d'ici 2030 et 2045, respectivement (FID, 2019). Au Canada, 11 millions de personnes vivent avec un prédiabète ou un diabète. Ce nombre devrait passer à 13.9 millions (33% des Canadiens) d'ici 2026 (Diabetes, 2016). Le prédiabète se définit par une diminution de la tolérance au glucose ou une anomalie de la glycémie à jeun qui prédispose à un risque éventuel de diabète de type 2. À l'échelle mondiale, le diabète de type 2 est la forme la plus courante de diabète représentant environ 90% des cas ; soit 1 adulte sur 11 (Zheng et al., 2018). Le diabète de type 2 est actuellement un problème majeur de santé publique avec une prévalence de 415 millions de personnes en 2015, un

chiffre qui atteindra 642 millions de personnes d'ici 2040 (Zheng et al., 2018). Au Canada, en 2014, 3 millions de personnes étaient atteintes du diabète de type 2 et la prévalence était plus élevée chez les hommes (8.7%) que chez les femmes (7.6%) (Figure 1) (Agence de la santé publique du Canada, 2017).



**Figure 1 : Représentation graphique de la prévalence du diabète de type 1 et 2 diagnostiquée au Canada selon l'âge et le sexe pour l'année 2013-2014.** La prévalence est plus élevée chez les hommes que chez les femmes. Le nombre de personnes atteintes par le diabète augmente avec l'âge chez les deux sexes (Agence de la santé publique du Canada, 2017).

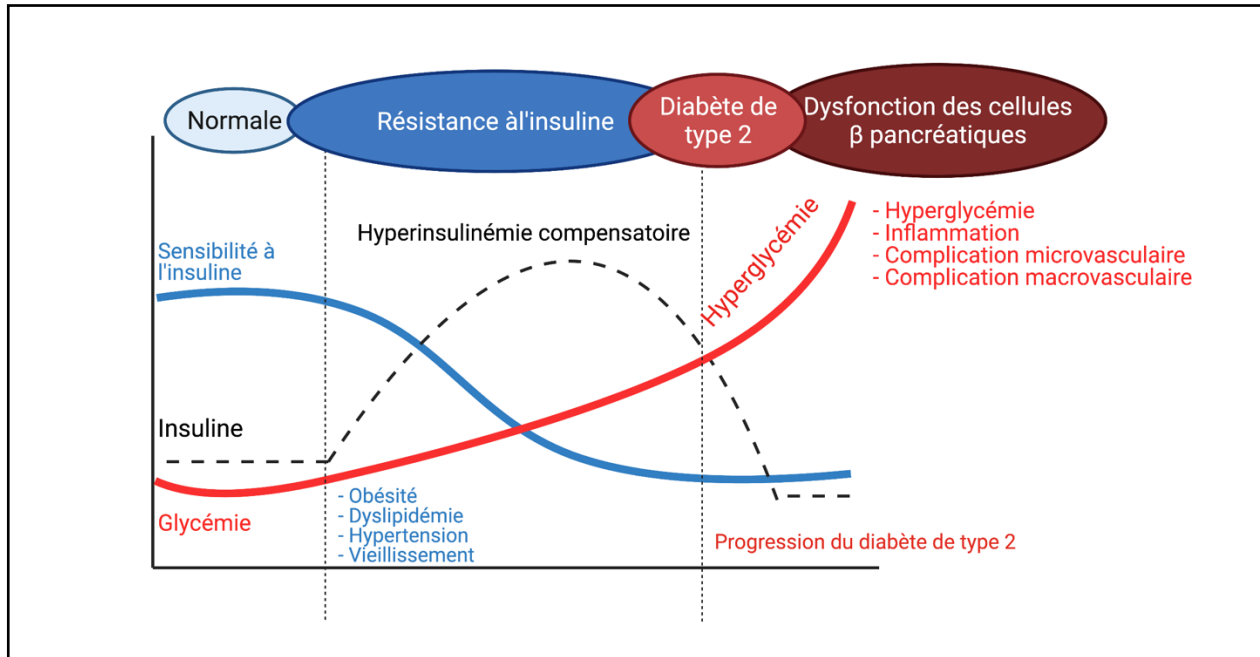
### 2.1.2. Diabète de type 2

En général, le diabète de type 2 se développe graduellement. Les personnes vivant avec ce diagnostic sont généralement atteintes par un prédiabète avant de développer un diabète de type 2. Le prédiabète est une condition évitable lors de laquelle la glycémie

est plus élevée que le niveau normal ( $\leq 6.0$  vs  $6.1\text{--}6.9$  mmol/L), mais pas assez élevée pour être considérée comme une maladie complète (Lipsombe, 2018). Il a été rapporté que l'âge, l'obésité, l'hypertension, la dyslipidémie, les habitudes de vie et les antécédents familiaux sont des facteurs de risque du diabète de type 2. Généralement, ces facteurs augmentent la production des espèces réactives d'oxygène (ROS) par la mitochondrie, sources d'un stress oxydatif. En réponse au stress oxydatif, l'inflammation est générée par l'immunité innée. L'inflammation induit la libération de cytokines inflammatoires comme le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- $\alpha$ ) et l'interleukine 1 (IL-1) et l'IL-6. Ces médiateurs vont déphosphoryler le récepteur d'insuline et altérer la signalisation en aval de l'insuline dans les organes cibles. La désensibilisation des récepteurs à l'insuline induit une résistance à l'insuline et mène à l'hyperglycémie. L'exposition des cellules  $\beta$  pancréatiques à une concentration élevée de glucose mènent à une défaillance de celles-ci à sécréter de l'insuline (Mari et al., 2010; Savage et al., 2007). En raison de ces anomalies, l'homéostasie du glucose est altérée ce qui provoque une hyperglycémie chronique.

Une exposition prolongée à une hyperglycémie ainsi que les facteurs de risque endommageant les vaisseaux sanguins augmentent le risque de complications macrovasculaires (cardiopathie ischémique, accident vasculaire cérébral et maladie vasculaire périphérique) et microvasculaires (rétinopathie, néphropathie, neuropathie) (Stratton et al., 2000). Ces complications sont responsables de l'augmentation de la mortalité précoce dans cette population. Par exemple, une étude clinique a examiné la prévalence des complications macrovasculaires et microvasculaires chez 2456 personnes au moment du diagnostic du diabète de type 2. L'étude a démontré que 12% des personnes présentaient une complication microvasculaire et 17% présentaient une complication macrovasculaire et 6% les deux complications (Gedebjerg et al., 2018). Le diabète de type 2 augmente de 2 fois le risque de maladie coronarienne et d'accident vasculaire cérébral même lorsque la glycémie est contrôlée avec la médication (Sarwar

et al., 2010). La fréquence et la gravité des complications sont étroitement liées à la durée d'évolution du diabète et à l'âge du patient (Donnelly et al., 2000) (Figure 2).



**Figure 2 : Représentation graphique de l'évolution du diabète de type 2.** Les facteurs de risque tels que l'obésité, la dyslipidémie, l'hypertension et le vieillissement peuvent modifier la sensibilité à l'insuline et induire une résistance à l'insuline. La résistance à l'insuline mène à une hyperglycémie, une dysfonction des cellules β pancréatiques et des complications macrovasculaires et microvasculaires (Illustration créée avec Biorender, inspiré de (DeFronzo, 1988).

### 2.1.3. Facteurs de risque du diabète de type 2

Une combinaison de facteurs de risque non modifiables (âge, sexe, origine ethnique et génétique) et de facteurs de risque modifiables (obésité, hypertension, dyslipidémie, tabagisme, inactivité physique et mauvaise alimentation) augmentent le risque de développer un diabète de type 2. Pour les facteurs non modifiables, quel que soit la population, le diabète de type 2 augmente avec l'âge (Meneilly et al., 2013). Une baisse de la sécrétion d'insuline et un développement de la résistance à l'insuline sont

observés avec le vieillissement (Scheen, 2005). Le diabète de type 2 est aussi une maladie héréditaire. Le risque de présenter la maladie augmente de 30% lorsqu'un parent est atteint par le diabète et de 70% si les deux parents sont affectés par cette maladie (Fery, 2005). La sédentarité et une mauvaise alimentation (diète riche en gras et faible en fibres) prédisposent au développement de l'obésité, le facteur modifiable le plus important impliqué dans la résistance à l'insuline et le diabète de type 2 (Mokdad et al., 2003). Il a été rapporté que 50 à 90% des personnes ayant un diabète de type 2 sont obèses (Kyrrou & Tsigos, 2009) (Figure 3).

Une accumulation excessive d'acide gras mène à l'activation des macrophages, la sécrétion subséquente de cytokines inflammatoires, de la leptine et de l'adipokine et l'activation de l'inhibiteur d'adiponectine. Ces marqueurs inflammatoires activent plusieurs kinases interférant avec la signalisation de l'insuline (Zatterale et al., 2019). Une diminution de la sécrétion d'insuline déclenche la lipolyse et diminue l'absorption du glucose par les organes cibles. La lipolyse, dans le tissu adipeux, augmente la livraison d'acides gras libres au foie, qui à son tour favorise la gluconéogenèse hépatique et favorise l'intolérance au glucose. L'activité physique et un régime alimentaire équilibré peuvent prévenir l'obésité et la survenue du diabète de type 2. Par exemple, l'étude *Action for Health in Diabetes* (Look AHEAD) a démontré l'efficacité d'une intervention de changement des habitudes de vie, incluant l'activité physique et une bonne alimentation, sur la perte de poids et les facteurs reliés à l'obésité. L'objectif de l'intervention était de comparer un groupe d'individus faisant 175 minutes d'exercice non supervisé par semaine à un groupe témoin ayant gardé leurs habitudes de vie (nutrition quotidienne, peu d'activité physique). Pour l'intervention diététique, au cours des semaines 3 à 19, une diète à portions contrôlées (remplacer le petit-déjeuner et le déjeuner par boisson protéinée et consommation de fruits et légumes) a été prescrite pour les participants. Après 9 ans de suivi, le groupe ayant subi l'intervention présentait des améliorations très marquées et soutenues de nombreux paramètres dont la perte de poids, la santé





**Figure 3 : Représentation schématique des facteurs de risque impliqués dans le développement du diabète de type 2.** Les facteurs de risque du diabète de type 2 peuvent être classés en 2 catégories : modifiables et non modifiables. Les facteurs non modifiables sont propres à chaque individu comme la génétique, le sexe, et l'ethnicité. Les facteurs modifiables sont ceux qui peuvent être changés dans le but de réduire le risque de développer le diabète de type 2. Les facteurs de risque modifiables qui comprennent principalement l'inactivité physique, une mauvaise alimentation, l'obésité et l'hypertension peuvent induire une réponse inflammatoire, une dyslipidémie et une hyperinsulinémie. Ces facteurs mènent à long terme à une résistance à l'insuline, une dysfonction des cellules  $\beta$  pancréatiques et un diabète de type 2. Ces processus sont stimulés par différents mécanismes tels que le stress oxydatif, l'augmentation des acides gras et de l'adipokines et de la rigidité artérielle. La présence du diabète de type 2 induit à long terme des complications macrovasculaires et microvasculaires (illustration créée avec Biorender).

Une hypertension non-contrôlée est aussi associée à un risque accru de développer le diabète de type 2. L'hypertension est l'un des principaux facteurs contribuant aux maladies cardiovasculaires et aux complications microvasculaires chez les personnes diabétiques de type 2 (Norm Campbell et al., 2011). Plusieurs mécanismes peuvent expliquer le lien entre l'hypertension et le diabète de type 2. L'inflammation et le stress oxydatif augmentent la production de l'angiotensinogène et l'angiotensine II (vasoconstricteur). L'activation séquentielle inappropriée du système rénine-angiotensine-aldostérone est considérée comme le principal facteur de coexistence de l'hypertension et du diabète de type 2 (Schütten et al., 2017). De plus, l'inflammation et le stress oxydant causés par une résistance à l'insuline ou l'hyperglycémie diminuent la biodisponibilité des facteurs vasodilatateurs et favorisent la rigidité artérielle (Pavlou et al., 2018) (Figure 3).

#### **2.1.4. Diagnostic du diabète de type 2**

Le diagnostic clinique du diabète de type 2 est basé sur les résultats d'analyses sanguines effectuées en laboratoire. Les tests communs utilisés pour le dépistage sont :

- 1) un test de glycémie après un minimum de 8 heures de jeûne, une glycémie supérieure**

à 7 mmol/L indiquant un diabète de type 2 ; **2**) un test oral de tolérance au glucose (OGTT) à jeun ou non. Celui-ci consiste à ingérer 75 g de glucose dissous dans 300 ml d'eau en 5 minutes. Chez les individus en santé, la glycémie revient à des valeurs normales de repos 2 heures après l'ingestion de glucose. Par contre, chez les personnes ayant un diabète de type 2, la glycémie reste élevée même 2 heures après l'ingestion de glucose. Un diabète de type 2 est confirmé lorsque la glycémie est supérieure à 11.1 mmol/L ; **3**) une mesure du taux de HbA1c à tout moment de la journée. Le HbA1c est un marqueur qui montre la concentration plasmatique du glucose sur 3 mois. Une valeur supérieure à 6.5 % confirme un diabète de type 2 (Lipsombe, 2018) (Tableau 1).

**Tableau 1: Les critères de diagnostic de prédiabète et de diabète de type 2** (Lipsombe, 2018).

<b>Classification</b>	<b>Glycémie à jeun (mmol/L)</b>	<b>Glycémie 2h post-OGTT (mmol/L)</b>	<b>HbA1c (%)</b>
<b>Normal</b>	≤6.0	≤7.7	<6.0
<b>Prédiabète</b>	6.1–6.9	7.8–11.0	6.0–6.4
<b>Diabète de type 2</b>	≥7.0	≥11.1	≥ 6.5

OGTT : test oral de tolérance au glucose, HbA1c : hémoglobine glyquée

La clampé euglycémique hyperinsulinémique constitue la méthode étalon (« gold standard ») pour évaluer la sensibilité à l'insuline. Cette technique consiste à perfuser de l'insuline intraveineux à un débit constant (48.6 pmol/l) et ensuite de perfuser en intraveineux du glucose à un taux qui stabilise la glycémie à 5.5 mmol/l. Plus la sensibilité à l'insuline est élevée, plus le taux d'infusion de glucose sera élevé pour maintenir une glycémie stable. Quoique précise, cette méthode demeure complexe, coûteuse et elle ne reflète pas les conditions physiologiques. Par conséquent, plusieurs indices de la sensibilité à l'insuline (Stumvoll MCR, OGIS, Matsuda, Stumvoll ISI, Gutt, Belfiore, Cederholm) ont été développés en utilisant les niveaux d'insuline et/ou de glucose mesurés lors d'un test de tolérance au glucose. Une méta-analyse a regroupé un total de

120 études qui ont démontré une corrélation entre ces indices et la clampé euglycémique hyperinsulinémique (Otten et al., 2014). Les indices Stumvoll MCR ( $r=0.70$ ), OGIS ( $r=0.70$ ), Matsuda ( $r=0.67$ ), Stumvoll ISI ( $r=0.67$ ) et Gutt ( $r=0.65$ ) ont démontré les plus fortes corrélations avec la clampé comparativement aux autres indices Belfiore et Cederholm ( $r$  non rapporté pour ces 2). En plus de ces indices, un modèle appelé « *oral minimal modèle* » (OMM) a été développé pour estimer la sensibilité à l'insuline. La validité du modèle a été testée par Dalla Man *et al.* (Dalla Man et al., 2005) après une clampé euglycémique hyperinsulinémique chez 21 personnes ayant une glycémie variée ( $41 \pm 1$  ans, 10 personnes glycémie normale et 11 personnes intolérant au glucose). Les résultats ont démontré une corrélation ( $r=0.81$ ,  $P<0.001$ ) entre la sensibilité à l'insuline calculée à l'aide du modèle OMM comparée à celle déterminée avec la clampé. Dans une deuxième étude, le même groupe a évalué la sensibilité à l'insuline avec le modèle OMM chez 22 personnes en santé ( $51 \pm 5$  ans) après un test de tolérance au glucose intraveineux (Dalla Man et al., 2002). Les résultats ont démontré une corrélation ( $r=0.75$ ,  $P<0.01$ ) entre la sensibilité à l'insuline calculée à l'aide du modèle OMM comparée à celle déterminée par le test de tolérance au glucose intraveineux.

### **2.1.5. Traitements du diabète de type 2**

L'enjeu du traitement du diabète de type 2 est le maintien de la glycémie proche de la normale sans induire une hypoglycémie. Le traitement comprend à la fois des interventions pharmaceutiques (hypoglycémifiants ou insulinothérapie) et des interventions non pharmacologiques (nutrition, activité physique, perte de poids) (Cheng, 2013). Le traitement initial repose sur une approche non pharmacologique par l'entremise de changements des habitudes de vie tels que l'activité physique, une perte de poids, l'arrêt du tabac et un régime pauvre en lipides et en glucides. Par exemple, l'étude longitudinale chinoise *Da Qing* a suivi 577 personnes intolérantes au glucose pendant 25 ans afin de déterminer si l'adoption et le maintien d'une habitude de vie saine réduit le risque de développer un diabète de type 2 et les complications reliées à cette maladie (Li et al.,

2008). L'intervention a retardé l'apparition du diabète de type 2 d'environ 4 ans et a réduit l'incidence des événements cardiovasculaires (26%), des complications microvasculaires (35%) et de la mortalité cardiovasculaire (33%) (Gong, 2019 ). L'effet d'un changement des habitudes de vie a également été comparé au traitement pharmacologique dans l'étude clinique *Diabetes Prevention Program* (DPP). Plus de 3 000 participants à risque de développer un diabète de type 2 ont participé à l'étude (Diabetes Prevention Program Research Group, 2002). À l'aide d'un questionnaire, les participants ont été divisés en 3 groupes d'interventions, soit placebo, traitement par metformine ou modification des habitudes de vie, et ils ont été suivis pendant au moins 3 ans. La modification des habitudes de vie comprenait une diète alimentaire saine, faible en calories et faible en gras et une pratique d'activité physique d'intensité modérée pendant au moins 150 minutes par semaine. L'incidence du diabète de type 2 a été réduite de 58% dans le groupe de modification des habitudes de vie et de 31% dans le groupe sous traitement par metformine, par rapport au groupe placebo (Knowler et al., 2002). Les résultats étaient similaires entre les femmes et les hommes peu importe l'origine ethnique.

Par contre, si la glycémie reste élevée malgré des bonnes habitudes de vie, des médicaments hypoglycémisants ou une insulinothérapie sont prescrits pour réguler la glycémie. Un contrôle efficace de la glycémie est associé à une réduction du risque de complications du diabète de type 2. Par exemple, l'étude prospective britannique sur le diabète (UKPDS) a suivi 5 102 personnes atteintes du diabète de type 2 pendant 25 ans afin de déterminer si une diminution de la glycémie par une thérapie pharmacologique entraîne des avantages cliniques tels que la diminution de complications microvasculaires et macrovasculaires. L'étude a rapporté que le contrôle glycémique (diminution de 1% de l'HbAc) par médication (hypoglycémisants ou insulinothérapie) était associé à une baisse des complications macrovasculaires (15 % à 33 %) et microvasculaires (37%) chez des personnes nouvellement diagnostiquées avec un diabète de type 2 (Bailey & Grant, 1998).

La metformine est le premier choix de médicament hypoglycémiant et les médicaments de deuxième choix sont les inhibiteurs de dipeptidyl-peptidase-4 (DPP-IV), les agonistes des récepteurs GLP-1, les sulfonylurées, les thiazolidinédiones, les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase, les méglitinides et les inhibiteurs du *sodium-glucose cotransporter-2* (SGLT-2) (Chatterjee et al., 2017) (Tableau 2). L'action de la metformine consiste à réduire la glycémie et diminuer la résistance à l'insuline en stimulant l'utilisation du glucose dans les tissus périphériques (foie et muscle squelettique) tout en ayant un faible risque d'hypoglycémie (Pernicova & Korbonits, 2014). La metformine est également associée à une perte de poids corporel, ainsi qu'à une diminution des taux de cholestérol total, du LDL-cholestérol et de la pression artérielle. Une méta analyse a démontré que l'action de la metformine semble être plus efficace pour réduire le HbA1c comparé aux autres classes de médicaments telles que les sulfonylurées, les inhibiteurs de la DPP-4, les agonistes des récepteurs du GLP-1 ou les inhibiteurs du SGLT2 (Maruthur et al., 2016). Cette étude a également démontré que le risque d'incidence et de mortalité cardiovasculaire est plus faible avec la metformine qu'avec les sulfonylurées chez les personnes ayant un diabète de type 2. De plus, une étude clinique effectuée sur 390 personnes ayant le diabète de type 2, a démontré que la combinaison de la metformine avec d'autres agents hypoglycémiants réduit le risque de développer des maladies cardiovasculaires après une période de suivi d'environ 4 ans (Kooy et al., 2009).

L'insulinothérapie est généralement recommandée pour le diabète de type 2 lorsque la glycémie est élevée malgré un traitement hypoglycémiant. Les analogues d'insuline sont une séquence d'acides aminés modifiés à partir de la molécule d'insuline humaine avec une absorption plus rapide. L'injection sous-cutanée des analogues d'insuline conduit à une récupération partielle de la fonction des cellules  $\beta$  pancréatiques qui ne sont plus en mesure de produire de l'insuline pour absorber le glucose (Swinnen et al., 2009).

**Tableau 2 : Classes de médicaments pour le traitement de l'hyperglycémie pour les personnes ayant le diabète de type 2 (Rehani et al., 2019).**

Classe de médicament	Action
<b>Metformine</b>	1) Absorption de la metformine par le récepteur oct1 mitochondrial inhibe mGPD et la chaîne respiratoire qui à son tour diminue l'apport ATP/ADP. Ceci empêche le glycérol de participer à la voie de la glycogénèse. 2) Accumulation de NADH ralentit la conversion du lactate en pyruvate. 3) Stimule aussi la sécrétion de GLP-1.
<b>Sulfonylurées</b>	1) Agit au niveau des cellules $\beta$ pancréatiques. Se lie à son récepteur SUR1 et agit sur le canal $K_{ATP}$ pour provoquer la dépolarisation et l'ouverture des canaux calciques afin de produire de l'insuline. 2) Augmente la disponibilité de l'ATP dans la mitochondrie et augmente le processus métabolique. 3) Stimule la glycogénèse hépatique.
<b>Méglitinides</b>	Agit sur le canal $K_{ATP}$ des cellules $\beta$ pancréatiques et augmente la sécrétion d'insuline.
<b>Inhibiteurs de DPP-IV</b>	Inhibe l'enzyme DPP-IV qui inhibe le GLP-1.
<b>Agoniste des récepteurs du GLP-1</b>	Se lie à son récepteur sur les cellules de type L de l'intestin, induisant la libération de GLP-1 et la dégradation de DPP-IV qui stimule la sécrétion d'insuline.
<b>Inhibiteurs de SGLT2</b>	Inhibiteur du co-transporteur SGLT2 dans le tubule proximal du rein, réduisant l'absorption du glucose par le rein.
<b>Thiazolidinediones</b>	1) Affinité pour le site de liaison PPAR-gamma qui induit la transcription des gènes impliqués dans le métabolisme du glucose et des lipides. 2) Active de manière unique la voie PI3K qui induit la translocation de GLUT4 à la membrane.
<b>Inhibiteurs de l'alpha-glucosidase</b>	Inhibe l'alpha-glucosidase qui convertit les polysaccharides en monosaccharides et ralentit l'absorption intestinale du glucose.
<b>Orlistat</b>	Inhibe les lipases pancréatiques et gastriques et bloque l'absorption des graisses ingérées, ce qui peut aider à améliorer le contrôle de la glycémie.
<b>Insuline</b>	Administrée par injection pour diminuer la glycémie.

mPDG : glycérophosphate déshydrogénase mitochondriale, ATP : adénosine triphosphate; ADP : adénosine diphosphate, NADH : nicotinamide adénine dinucléotide, SUR1 : sulfonylurée 1, DPP-IV : dipeptidyl peptidase-4, GLP-1 : *glucagon-like peptide-1*, SGLT2 : sodium-glucose co-transporteur 2, PPAR-gamma : *peroxisome proliferator-activated receptor gamma*, GLUT4 : transporteur de glucose 4.

### 2.1.6. Physiologie et métabolisme du glucose

Le maintien de l'homéostasie du glucose implique l'action simultanée de plusieurs organes (pancréas, muscle squelettique, tissu adipeux, foie et reins) et de plusieurs

hormones (insuline, glucagon et somatostatine) (Figure 4). Après une prise alimentaire, l'intestin qui possède un grand nombre de récepteurs métaboliques permet de signaler aux organes (le foie, le muscle squelettique et le tissu adipeux) l'arrivée de glucose dans la circulation sanguine.

**Le pancréas**, qui est en contact direct avec l'intestin, va percevoir l'arrivée du glucose présent dans le sang. L'entrée de glucose dans le pancréas se fait par les transporteurs de glucose 2 (GLUT2). Le métabolisme intracellulaire du glucose va aboutir à une augmentation de la concentration d'ATP intracellulaire. Le changement du rapport ATP/ADP va conduire à la fermeture des canaux potassiques ( $K_{ATP}$ ) (Koster et al., 2005). Ceci déclenche une dépolarisation membranaire qui permet, par la suite, l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants ( $Ca_v$ ) (Koster et al., 2005). L'entrée de calcium entraîne l'exocytose des vésicules d'insuline dans la circulation sanguine. L'insuline est transportée par le sang aux organes cibles et se fixe sur son récepteur principalement situé au niveau des hépatocytes, des adipocytes et des cellules du muscle squelettique. En se fixant sur son récepteur, le récepteur d'insuline devient phosphorylé ce qui engendre plusieurs cascades d'évènements aboutissant à la translocation des GLUT4 à la membrane cellulaire (Watson & Pessin, 2001) L'entrée subséquente de glucose dans les cellules cibles permet de réduire la glycémie (Figure 4). **Le foie** reçoit le glucose absorbé par l'intestin via la veine porte hépatique. Il est capable de stocker le glucose si la glycémie est élevée ou stable. Aussi, il est capable de produire du glucose si la glycémie tend à baisser, puisqu'il contient des quantités importantes de glycogène (forme stockée du glucose) (Girard et al., 1997).

**Les muscles squelettiques** participent également à la régulation de l'homéostasie glucidique. Suite à un repas, la majorité du glucose (environ 80 %) est absorbé par le muscle squelettique (DeFronzo, 1988). Contrairement au foie, le muscle squelettique n'est pas capable de produire et libérer le glucose dans la circulation sanguine. Par contre,



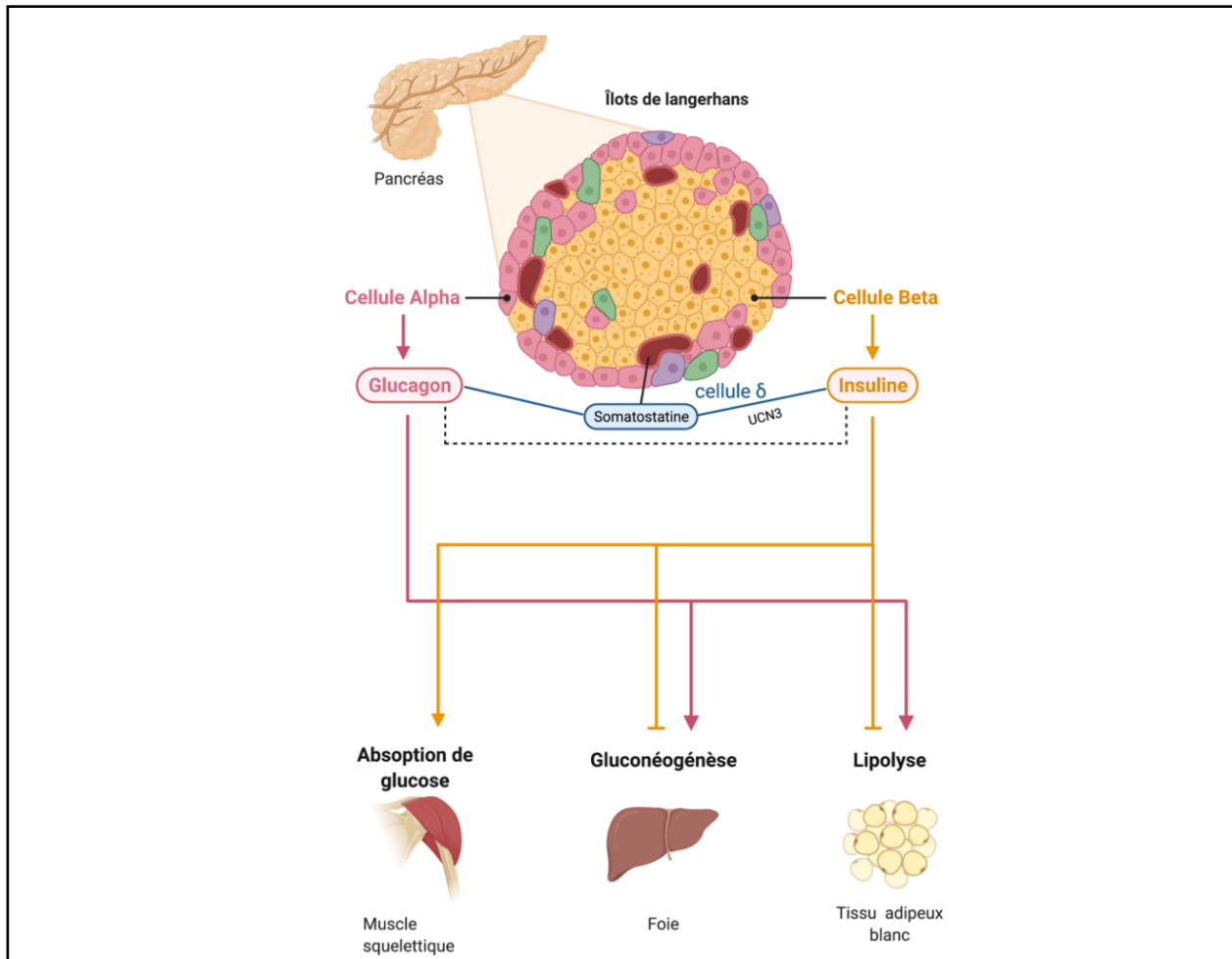
il est capable d'absorber l'excès du glucose en circulation après un repas afin de prévenir une hyperglycémie (Saltiel & Kahn, 2001). L'absorption du glucose par le muscle squelettique se fait surtout grâce à la translocation des GLUT4 à la membrane cellulaire, un processus stimulé par l'insuline. Ensuite, le muscle utilise le glucose absorbé pour ses fonctions locomotrices ou pour le stocker sous forme de glycogène en tant que réserve d'énergie. Le muscle squelettique est constitué de fibres oxydantes : fibres I à contraction lente et fibres II (2A et 2B) à contraction rapide (Schiaffino & Reggiani, 2011). Les fibres à contraction lente sont plus sensibles à l'insuline et l'expression de GLUT4 est normalement plus élevée dans les fibres lentes que les fibres à contraction rapide (Gaster et al., 2000). Il a été rapporté que les personnes atteintes de diabète de type 2 ont une fraction de fibres lentes inférieure à celle des personnes en bonne santé (Gaster et al., 2001).

**Le tissu adipeux** est également capable de stocker le glucose en excès sous forme de triglycérides (Choe et al., 2016). Les adipocytes possèdent le même transporteur de glucose que les muscles squelettiques, GLUT4, et sa translocation à la membrane se fait par l'action de l'insuline. Il existe 2 types de tissus adipeux : le tissu adipeux brun et le tissu adipeux blanc. Le tissu adipeux brun a pour rôle de réguler la température corporelle par le phénomène de la thermogénèse (Klingenspor, 2003). Le tissu adipeux blanc constitue l'organe premier de stockage des lipides (Aarsland et al., 1997). En cas de besoin énergétique, la lipolyse du tissu adipeux convertit les triglycérides en acides gras libres et en glycérol, qui seront utilisés comme des substrats pour les dépenses énergétiques (Choe et al., 2016). Le dernier organe qui régule l'homéostasie du glucose est **le rein**. Celui-ci produit du glucose par le processus de néoglucogénèse au niveau du cortex. Également, il contribue à l'hémostasie du glucose en filtrant et en réabsorbant le glucose par les co-transporteurs sodium-glucose SGLT1 au niveau de la membrane apicale du segment S3 du tubule proximal et par SGLT2 au niveau de la membrane apicale des segments S1 et S2 du tubule proximal (Triplitt, 2012).

En plus de l'insuline, d'autres hormones secrétées par le pancréas participent aussi à la régulation de la glycémie. **Le glucagon**, secrété par les cellules  $\alpha$  pancréatiques, joue un rôle important dans le maintien de l'homéostasie du glucose en stimulant la libération de glucose hépatique. La sécrétion de glucagon par les cellules  $\alpha$  pancréatiques est stimulée par une hypoglycémie et inhibée par une hyperglycémie (Figure 4). Par contre, les mécanismes par lesquels le glucose régule la sécrétion de glucagon ne sont pas complètement connus. Plusieurs mécanismes sont suggérés. Le premier est que le glucose inhibe directement la sécrétion de glucagon. Le deuxième est que la sécrétion de glucagon dépend du seuil d'activation des canaux  $K_{ATP}$  (présent sur les cellules  $\alpha$ ). En effet, l'ouverture du canal  $K_{ATP}$  entraîne la sécrétion du glucagon. Par contre, lors d'une augmentation du glucose, le canal  $K_{ATP}$  se ferme afin de dépolariser la cellule ce qui inhibe la sécrétion de glucagon (Gilon, 2020).

Finalemment, **la somatostatine**, secrétée par les cellules  $\delta$  pancréatiques (5% des cellules pancréatiques), est un inhibiteur à la fois de l'insuline et du glucagon. Les cellules  $\delta$  sont équipées de canaux  $K_{ATP}$  (ouvert à une faible concentration de glucose) qui sont sensibles à l'activité électrique de la cellule (Rorsman, 1997). La somatostatine est sécrétée en fonction de la concentration de calcium libérée par les canaux calciques (Huisling, 2020). La somatostatine a une réponse pulsatile et coordonnée avec les cellules  $\beta$  pancréatiques grâce à des jonctions qui relient les cellules entre elles. Lors de la stimulation des cellules  $\beta$ , la protéine l'urocortine-3 (UCN3) est co-libérée avec l'insuline pour activer les cellules  $\delta$  (Figure 4). De telle sorte, la somatostatine prolonge la sécrétion d'insuline de 30 à 60 secondes (Huisling, 2020). Un tel mécanisme expliquerait le retard qui sépare la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose et la sécrétion de somatostatine. Lorsque la concentration de glucose augmente, une boucle de rétroaction négative est mise en place. Celle-ci est produite par les cellules  $\delta$  qui fournissent une rétro-inhibition sur la cellule  $\beta$  pour contrebalancer la stimulation induite par la prise d'aliments. La somatostatine se lie également à son récepteur couplé aux protéines G inhibitrices pour

diminuer l'activité électrique des cellules  $\alpha$  et  $\beta$  (Rorsman, 1997). De plus, une sécrétion excessive d'insuline peut provoquer une hypoglycémie sévère. Alors, une inhibition de rétroaction locale par la somatostatine atténue la sécrétion et l'action périphérique de l'insuline afin de garder la glycémie dans les valeurs normales.



**Figure 4 : Représentation schématique de l'action du pancréas sur l'homéostasie du glucose.** La régulation du glucose est un processus qui met en jeu le système hormonal (glucagon, somatostatine et insuline) ainsi que plusieurs organes (pancréas, muscle squelettique, foie et tissu adipeux). Après un repas, la libération d'insuline par les cellules  $\beta$  pancréatiques permet au glucose de pénétrer dans les organes cibles (muscle squelettique, foie, tissu adipeux), ce qui permet de produire l'énergie dont les organes ont besoin pour leur métabolisme. Le surplus est principalement stocké dans le foie et dans le muscle squelettique sous forme de glycogène ce qui permet de bloquer la lipolyse et la

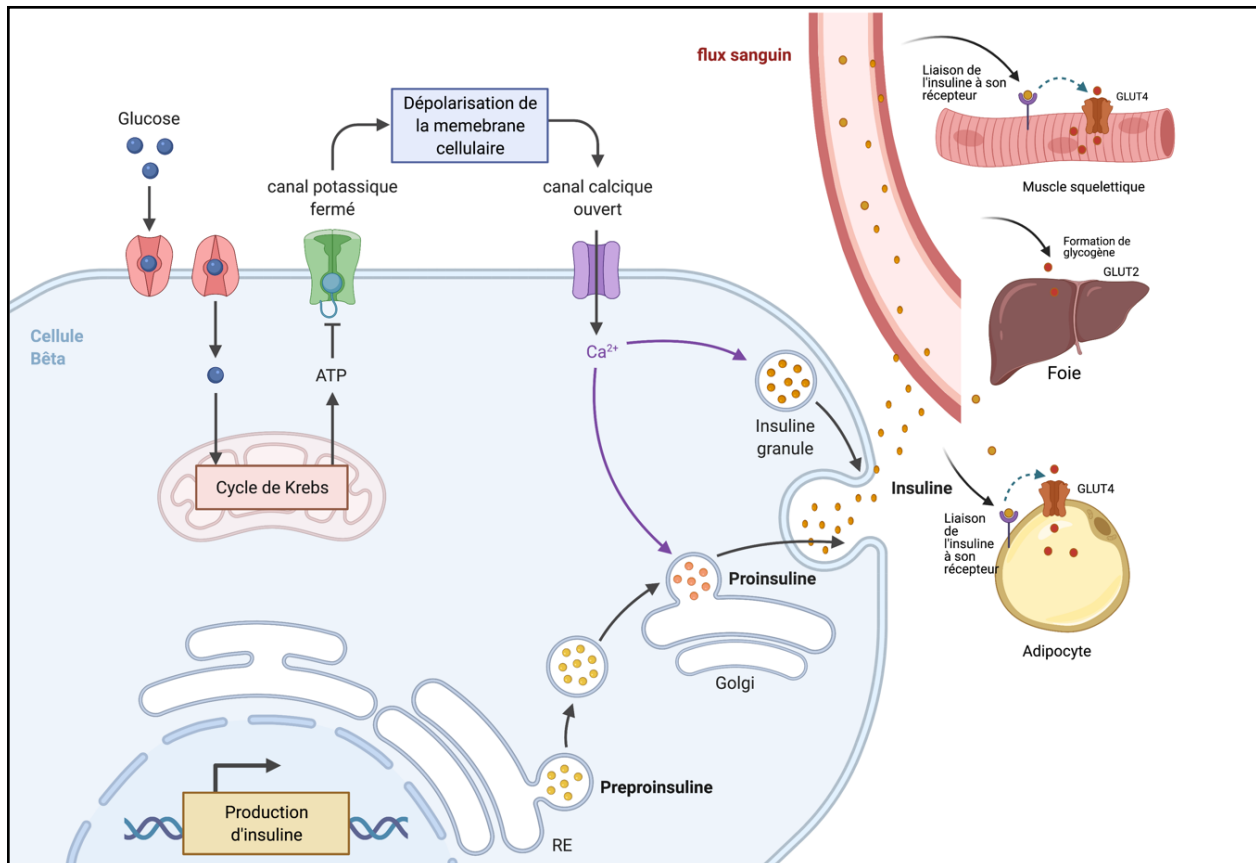
production de glucose par le foie afin de maintenir la glycémie dans des valeurs normales (illustration créée avec Biorender, avec permission).

### **2.1.6.1. Insuline et la régulation de la glycémie**

L'insuline est une hormone constituée de 51 acides aminés ayant un poids moléculaire de 6 kDa. Elle est constituée de deux chaînes polypeptidiques (la chaîne A de 21 acides aminés et la chaîne B de 30 acides aminés) reliées entre elles par deux ponts disulfures (Sanger, 1959). L'insuline exerce ses actions en se liant à son récepteur présent sur des cellules hépatiques, des cellules musculaires squelettiques et des adipocytes. La principale stimulation de la sécrétion d'insuline est l'augmentation de la glycémie, mais elle peut aussi être sécrétée par l'action du système nerveux autonome (parasymphatique), de l'hormone de croissance, de la prolactine ou du GLP-1. L'insuline stimule l'absorption de glucose par 3 organes : **1)** stimule le muscle squelettique pour augmenter l'absorption du glucose, **2)** stimule la glycogénèse par le foie, **3)** inhibe la sécrétion du glucagon par les cellules  $\alpha$  pancréatiques qui signalent en même temps au foie d'arrêter la production de glucose par glyco-génolyse et néogluco-génèse (Cryer, 1992). Mise à part son rôle de diminuer la glycémie, l'insuline induit le stockage des triglycérides dans les adipocytes, la synthèse des protéines dans le foie et le muscle squelettique et la prolifération et la croissance cellulaire (Cryer, 1992).

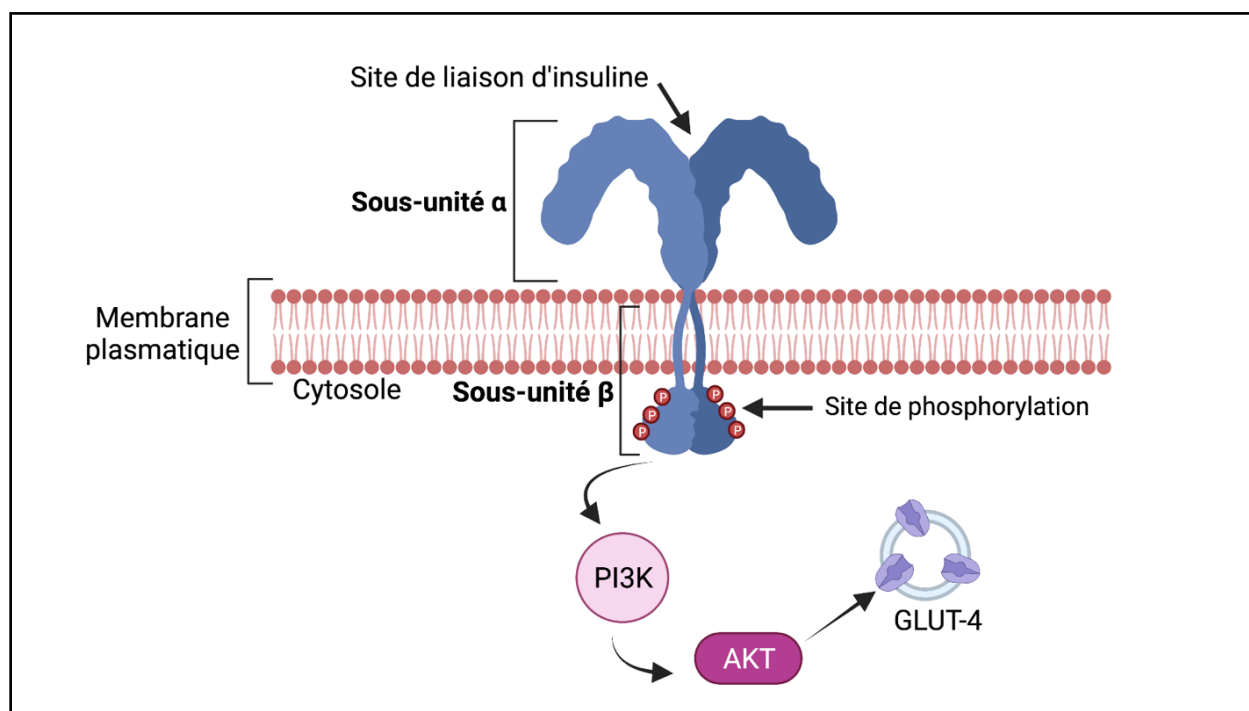
La biosynthèse de l'insuline se fait en plusieurs étapes au sein des cellules  $\beta$  du pancréas. La traduction de l'ARNm du gène de l'insuline amène à la formation de la pré-proinsuline. La pré-proinsuline, située dans la cellule  $\beta$  pancréatique, entre dans le réticulum endoplasmique grâce à son peptide signal situé en N-terminal. Dans le réticulum endoplasmique, des enzymes protéolytiques vont cliver la séquence signal de 24 acides aminés et ainsi former la pro-insuline. Ensuite, la pro-insuline, formée des chaînes A et B connectées par le peptide C, est transportée dans des microvésicules vers le golgi. Finalement, c'est dans cet organite que le peptide C se détache des deux chaînes pour

former l'insuline. L'insuline va co-précipiter avec des ions zinc dans des microvésicules pour être sécrétée dans le sang (Magnan & Ktorza, 2005). Après sa libération dans la circulation sanguine, l'insuline se lie à son récepteur sur les organes cibles afin de maintenir la glycémie (Figure 5).



**Figure 5 : Représentation schématique de la production de l'insuline par le pancréas.** Le glucose entre dans le pancréas par le transporteur de glucose 2 (GLUT2) et induit une élévation de l'ATP conduisant à la fermeture de canaux  $K^+$  ATP-dépendants. Cela entraîne une dépolérisation cellulaire qui permettra l'ouverture de canaux calciques voltage dépendant. L'augmentation du calcium intracellulaire permet de convertir la preproinsuline en proinsuline qui va ensuite se convertir en insuline. Une fois l'insuline libérée en circulation, elle se lie à son récepteur au niveau des organes qui stockent ou utilisent le glucose (foie, muscle squelettique, tissu adipeux). Le glucose entre dans les organes cibles par le transporteur de glucose 4 (GLUT4) dans le muscle squelettique et les adipocytes et par le transporteur de glucose (GLUT2) au niveau du foie. RE : Réticulum endoplasmique (Illustration créée avec Biorender, avec permission).

La sécrétion de l'insuline se fait en 2 étapes : le « pic précoce » pour sensibiliser les tissus cibles à l'hormone, suivi du « pic tardif » qui tend progressivement vers une valeur cible (Cerasi et al., 1972). Le récepteur de l'insuline est constitué de 4 domaines : 2 chaînes  $\alpha$  extracellulaires, reliées par des ponts disulfures à 2 chaînes  $\beta$  intracellulaires, liées à une tyrosine kinase. En se fixant sur son récepteur, les sous-unités  $\beta$  deviennent phosphorylées sur des résidus tyrosines, ce qui permet l'autophosphorylation du récepteur ainsi que ses substrats (IRS-1 et IRS-2) (Magnan & Ktorza, 2005). Puis, les substrats d'insuline activent l'enzyme phosphoinositide 3-kinase (PI3K), qui à son tour entraîne la phosphorylation de la protéine sérine/thréonine kinase (AKT). Ce mécanisme induit la translocation de GLUT4 vers la membrane cellulaire, afin de permettre l'entrée de glucose dans la cellule (Magnan & Ktorza, 2005). En absence d'insuline, le récepteur est sous forme inactive par l'intermédiaire des domaines  $\alpha$  qui exercent une contrainte inhibitrice sur les sous-unités  $\beta$  du récepteur de l'insuline (Figure 6).



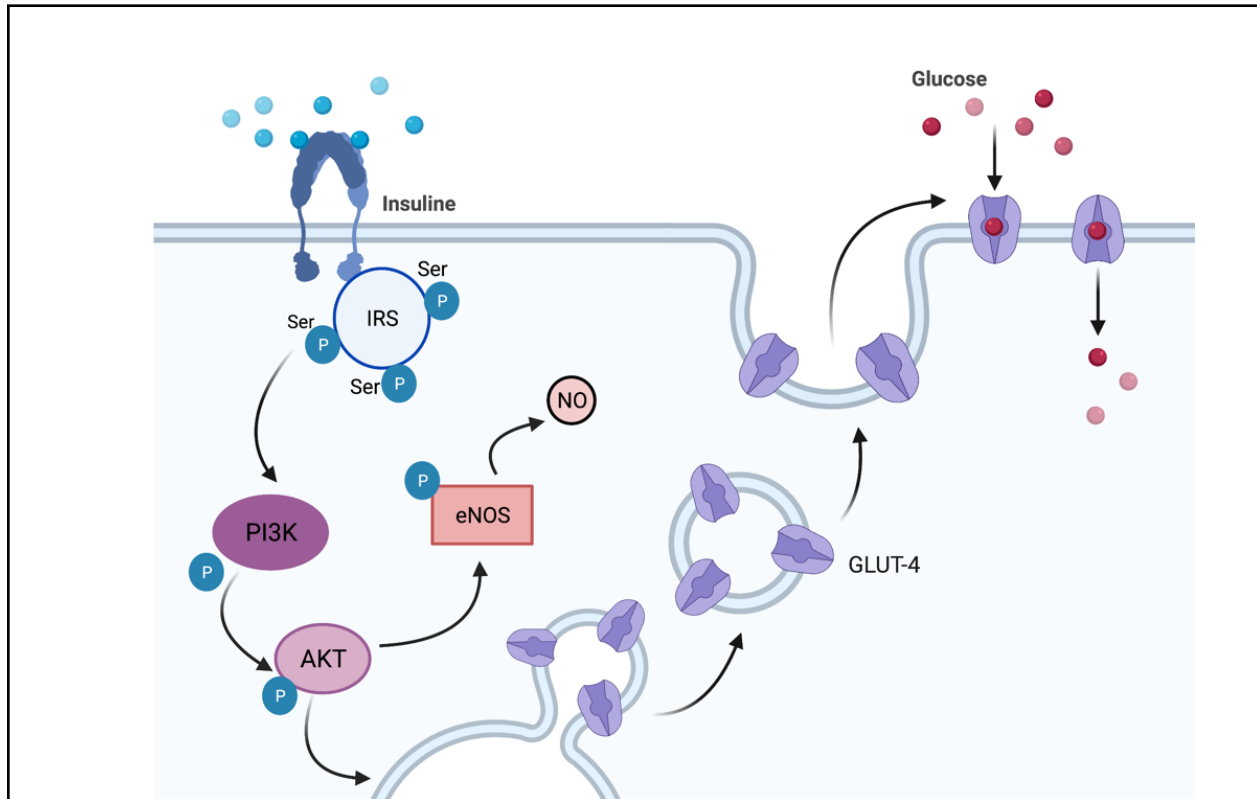
**Figure 6 : Représentation schématique du récepteur d'insuline.** Le récepteur d'insuline est constitué de deux chaînes  $\alpha$  extracellulaires reliées par des ponts disulfures

à deux chaînes  $\beta$  transmembranaires. Chaque sous-unité  $\beta$  porte un domaine à activité tyrosine kinase intracellulaire qui phosphoryle les kinases en aval afin de transloquer les transporteurs de glucose de type 4 (GLUT-4) à la membrane plasmique pour permettre l'entrée du glucose dans la cellule. PI3K : la phosphatidylinositol-3 kinase, AKT : la protéine kinase B (Illustration créée avec Biorender).

En plus du glucose, la sécrétion d'insuline est stimulée par l'hormone GLP-1 (Yip & Wolfe, 2000), elle-même sécrétée par les cellules L de la partie finale de l'intestin grêle et du côlon qui sont directement en contact avec les nutriments (Baggio & Drucker, 2007). La sécrétion de GLP-1 est induite lorsque la glycémie est élevée. Une fois sécrétée, elle agit directement sur les cellules  $\beta$  du pancréas ou indirectement, par l'intermédiaire de nerfs sensoriels pour stimuler la sécrétion d'insuline tout en inhibant la sécrétion du glucagon (Nauck et al., 1997). Le GLP-1 a aussi un rôle dans la prolifération et le maintien de la fonction des cellules  $\beta$  pancréatiques. La sécrétion de GLP-1 favorise l'action de PI3K pour la survie des cellules  $\beta$  pancréatiques et une amélioration de la croissance du substrat du récepteur de l'insuline (Drucker, 2003).

En plus de la voie de signalisation PI3K, l'insuline stimule aussi la voie de la *mitogen-activated protein kinase* (MAPK), impliquée dans la différenciation et la prolifération cellulaire ainsi que la stimulation des molécules d'adhésion (White & Kahn, 1994). De plus, l'insuline exerce une action vasodilatatrice, qui régule l'expression de l'oxyde nitrique synthase au niveau de l'endothélium vasculaire (eNOS) (Muniyappa et al., 2007). Les récepteurs de l'insuline sont exprimés sur la surface de l'endothélium. L'autophosphorylation du récepteur de l'insuline phosphoryle son substrat (IRS-1) au niveau de la tyrosine. L'IRS-1 est susceptible de jouer un rôle important dans l'activation de la PI3K dans le contexte de l'activation de la eNOS (Montagnani, Ravichandran, et al., 2002). Une étude animale a évalué si l'IRS-1 est impliqué dans la production de NO. Les auteurs ont utilisé un ribozyme antisens ciblant spécifiquement l'IRS-1 chez le rat. L'induction du ribozyme IRS-1 dans les cellules endothéliales a réduit considérablement la production de NO stimulée par l'insuline (Montagnani, Ravichandran, et al., 2002). Cette

étude suggère que l'IRS-1 est une composante nécessaire de la voie de signalisation de l'insuline, conduisant à l'activation de PI3K qui stimule ensuite la production de la eNOS. Il a aussi été démontré par la technique du clamp euglycémique hyperinsulinémique qu'un inhibiteur de la NO (L-NAME) causait une inhibition du transport du glucose au niveau de l'organisme entier ainsi que dans le muscle squelettique et le tissu adipeux chez le rat (Roy et al., 1998) (Figure 7).



**Figure 7 : Représentation schématique de l'absorption du glucose par l'insuline dans une cellule du muscle squelettique.** L'insuline sécrétée par les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans se lie à son récepteur qui possède une activité sérine (ser) du substrat du récepteur d'insuline pour permettre l'autophosphorylation du récepteur. La phosphorylation du récepteur permet l'activation en aval de la phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K) et de la protéine kinase B (AKT) qui vont permettre la translocation des transporteurs de glucose 4 (GLUT4) à la membrane cellulaire afin d'absorber le glucose en circulation. La phosphorylation de AKT permet aussi la synthèse du monoxyde d'azote (NO) qui est un vasodilatateur important (Illustration créée avec Biorender, avec permission).



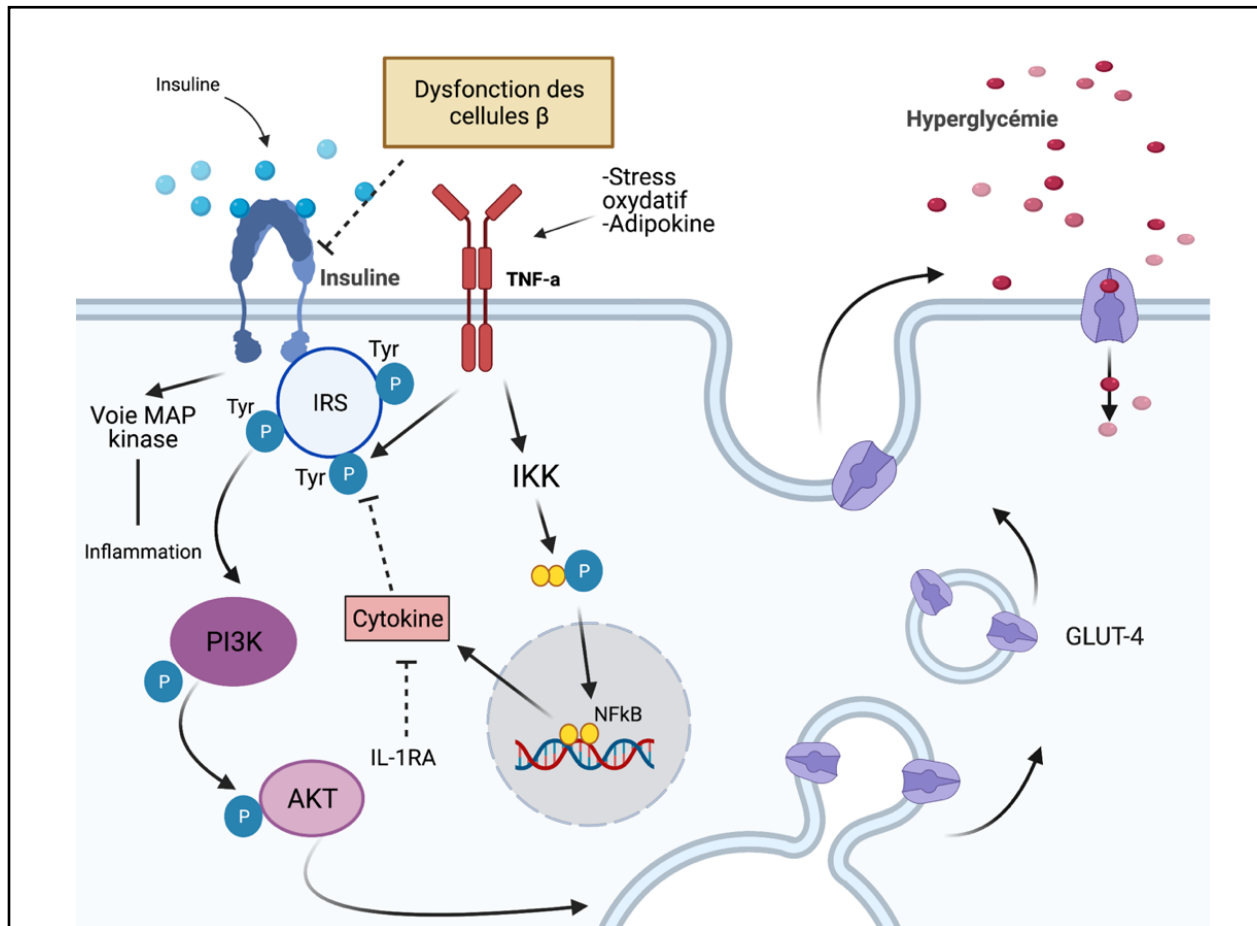
## 2.1.7. Physiopathologie du diabète de type 2

### 2.1.7.1. La résistance à l'insuline

La résistance à l'insuline est un état pathologique dans lequel les cellules cibles répondent moins bien à des concentrations physiologiques d'insuline. Cette résistance des tissus périphériques induit une phase compensatoire de sécrétion d'insuline par les cellules  $\beta$  pancréatiques (Prentki & Nolan, 2006). Dans ce cas, on peut observer une hyperinsulinémie, mais la concentration de glucose reste dans les valeurs normales. L'hyperinsulinémie compensatoire persistera jusqu'au moment où les cellules  $\beta$  du pancréas ne seront plus capables de sécréter suffisamment d'insuline afin de normaliser la glycémie. Chez un patient obèse intolérant au glucose, la fonction de la cellule  $\beta$  est diminuée d'environ 40% (Leahy, 2005) et lors du diabète de type 2 la perte de masse des cellules  $\beta$  augmente jusqu'à 50% (Butler et al., 2003). La présence excessivement élevée de glucose (glucotoxicité) et d'acide gras (lipotoxicité) induit l'expression de gènes pro-apoptotiques (FAS, APO-1, CD95) de la cellule  $\beta$  pancréatique ce qui augmente l'apoptose cellulaire.

Le stress oxydatif et l'inflammation sont aussi d'autres facteurs qui induisent l'apoptose des cellules  $\beta$  pancréatiques. Le *nuclear factor-kappa B* (NF $\kappa$ B) est le stimulateur principal d'une réponse inflammatoire. L'hyperglycémie et la dyslipidémie induisent l'activation de la signalisation de NF $\kappa$ B (Boden et al., 2005). La phosphorylation de la kinase de NF $\kappa$ B (IKK) déclenche la dégradation de l'inhibiteur de NF $\kappa$ B. La dégradation de l'inhibiteur de NF $\kappa$ B entraîne alors la formation de dimères de NF $\kappa$ B et leur translocation vers le noyau (Albert, 1996). Le NF $\kappa$ B exerce son effet en se liant à son site de liaison au niveau de l'ADN, modulant ainsi l'expression de nombreux gènes responsables d'induire une réponse inflammatoire (Zhang et al., 2004). Ces cytokines peuvent modifier la signalisation de l'insuline au niveau du foie, du muscle squelettique et du tissu adipeux, en altérant la phosphorylation du substrat du récepteur d'insuline (tyrosine au lieu de serine) ou en induisant l'apoptose des cellules  $\beta$  pancréatiques (Jager

et al., 2007). Le concept de l'inflammation et de l'hyperglycémie est un cercle vicieux. Il a été bien établi que les médiateurs inflammatoires jouent un rôle important dans l'induction de la résistance à l'insuline et de l'hyperglycémie (van Niekerk et al., 2019) ou à l'inverse, une hyperglycémie peut induire une réponse inflammatoire (Dhindsa et al., 2004) (Figure 8). À ce stade, c'est à dire en présence d'inflammation et d'hyperglycémie, la résistance à l'insuline est déjà maximale (Leahy, 2005).



**Figure 8 : Représentation schématique des mécanismes qui induisent la résistance à l'insuline.** Le récepteur d'insuline possède une activité tyrosine-kinase (Tyr) qui permet l'autophosphorylation du récepteur et la diminution des cascades d'événements en aval dont la phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K) et la protéine kinase B (AKT). Une diminution de la translocation du transporteur de glucose (GLUT4) augmente la glycémie. La phosphorylation de la Tyr active la voie de MAP (mitogen-activated protein)-kinase,

impliquée dans la croissance, la différenciation et l'inflammation. La phosphorylation Tyr peut être activée par de nombreux facteurs comme le tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), la dysfonction des cellules  $\beta$  pancréatiques, le stress oxydatif, les cytokines inflammatoires secrétées par l'activation de NF $\kappa$ B ou les adipokines libérées par le tissu adipeux. IL-1RA : antagoniste du récepteur de l'interleukine-1, NF $\kappa$ B : facteur nucléaire kappa-amplificateur de chaîne légère des cellules B activées, IKK : inhibiteur de la kinase de NF $\kappa$ B, et JNK : Jun kinase (Illustration créée avec Biorender, avec permission).

L'IL-6 est une cytokine pléiotrope, possédant à la fois des caractéristiques pro et anti-inflammatoires (Hunter & Jones, 2015). L'IL-6 désensibilise le récepteur de l'insuline en phosphorylant la tyrosine du substrat d'insuline au lieu de la serine (Cai et al., 2005). Malgré son rôle pro-inflammatoire, la production d'IL-6 par le muscle squelettique lors d'un exercice physique est considérée bénéfique dans l'amélioration de la sensibilité à l'insuline, la sécrétion d'insuline et la régulation de la glycémie (Pedersen & Febbraio, 2007). Cet effet est possiblement dû à l'activation d'AMPK lors d'un exercice, un régulateur clé de l'oxydation des acides gras et de l'absorption du glucose (Carey et al., 2006). Une étude *in vitro* a démontré que l'induction d'IL-6 augmente l'oxydation des acides gras et l'absorption de glucose dans la cellule (Carey et al., 2006). Une autre étude a démontré que l'induction d'IL-6 par l'exercice ou par injection aiguë chez des souris obèses augmente la production de GLP-1 dans les cellules L de l'intestin, stimulateur de la sécrétion d'insuline (Ellingsgaard et al., 2011).

L'interleukine-1 ( $\alpha$  et  $\beta$ ) est une cytokine pro-inflammatoire impliquée dans la destruction des cellules  $\beta$  pancréatiques (Zhao et al., 2014). Dans le cas du diabète de type 2, l'IL1-RA est l'inhibiteur de l'IL-1 $\alpha$  et  $\beta$  qui s'oppose à l'apoptose des cellules  $\beta$  pancréatiques et les cytokines produites par les macrophages du tissu adipeux (Dinarello, 2000; Juge-Aubry et al., 2004). Une quantité abondante d'IL1-RA est généralement secrétée par les cellules de sujets sains, mais son expression diminue chez les personnes atteintes de diabète de type 2 (Zhao et al., 2014).

### **2.1.7.2 L'effet de la résistance à l'insuline sur la dysfonction vasculaire**

Une diminution de la fonction endothéliale a été observée chez les personnes insulino-résistantes et/ou atteintes du diabète de type 2. Une corrélation négative existe entre la résistance à l'insuline et la fonction endothéliale (Steinberg et al., 1996). Lorsque la résistance à l'insuline progresse vers un diabète de type 2, les fluctuations du glucose liées à l'hyperglycémie déclenchent une réponse inflammatoire en inhibant la libération de NO et en stimulant une augmentation des substances vasoconstrictrices (ET-1, thromboxane) (Hink et al., 2001). Une voie spécifique reliée à la résistance à l'insuline est l'activation de la voie MAPK par l'hyperinsulinémie ou l'inhibition de la voie PI3K, l'activateur de la eNOS (Montagnani, Golovchenko, et al., 2002). De plus, les voies JNK et IKK sont impliquées dans le développement de la résistance à l'insuline et sont activées par les cytokines pro-inflammatoires, les ROS et les adipokines (Boden et al., 2005). Une baisse de la biodisponibilité de NO augmente l'expression des facteurs pro-inflammatoires et pro-coagulants, favorisant l'adhésion des leucocytes aux cellules endothéliales. Ces facteurs initient la première étape de l'adhésion des cellules immunitaires circulantes, suivi de l'infiltration de ces cellules immunitaires dans les tissus adjacents, conduisant à la progression de l'athérosclérose (De Caterina et al., 1995).

Un deuxième mécanisme qui pourrait diminuer la production de NO est le glycocalyx. Le glycocalyx (riche en protéoglycanes), qui tapisse l'endothélium, représente une première barrière et contribue à la régulation du transport cellulaire et macromoléculaire. Le glycocalyx est un compartiment crucial pour l'adhésion des cellules endothéliales, telles que la ICAM-1 et VCAM-1 et d'autre part, il atténue l'adhésion des leucocytes à ces molécules et la liaison et la régulation des enzymes impliquées dans la cascade de la coagulation (Reitsma et al., 2007). L'hyperglycémie en soi est un puissant stimulus pro-oxydant et pro-inflammatoire qui a été liée à une dégradation accrue du glycocalyx (Nieuwdorp et al., 2006).

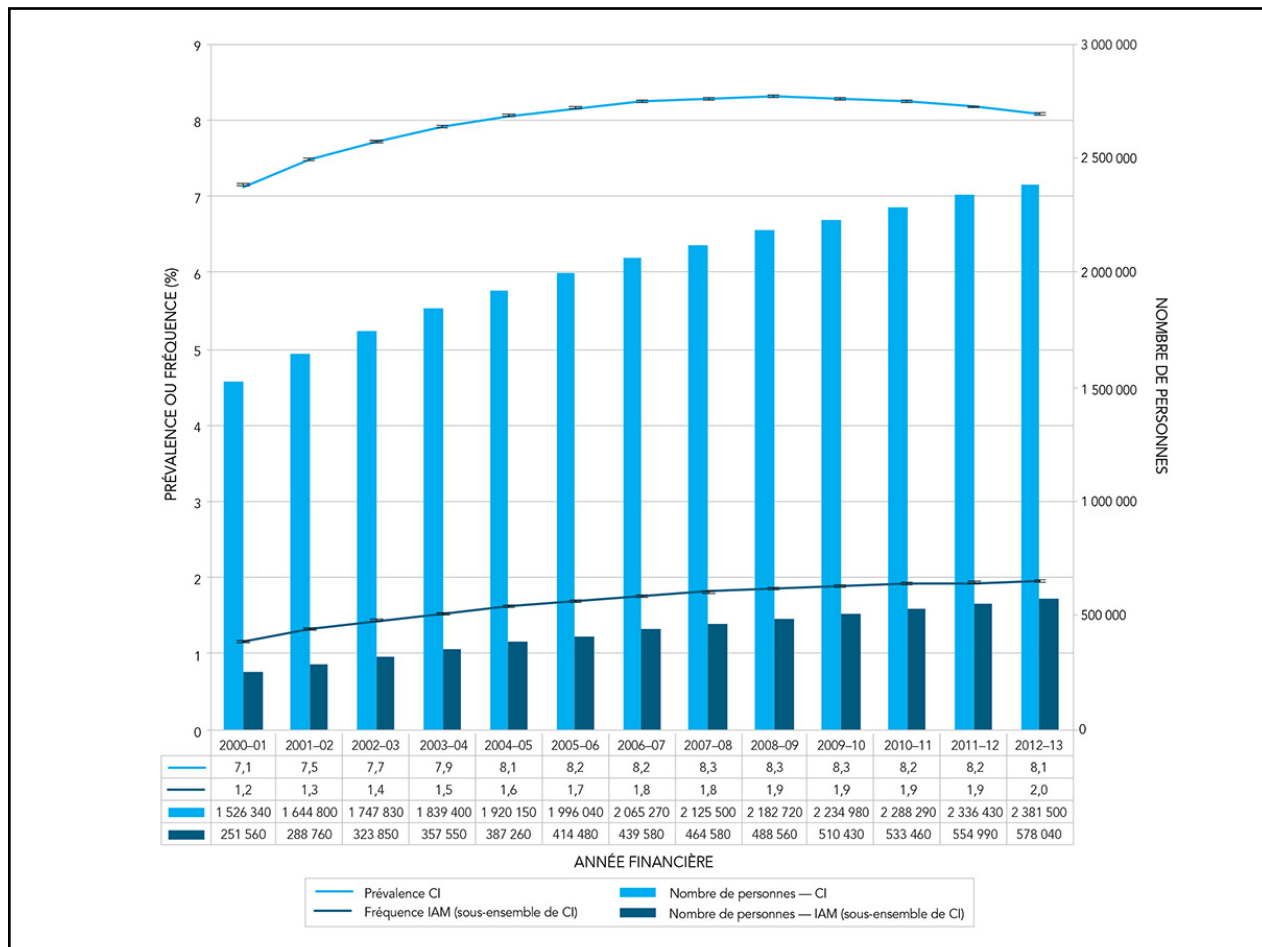
En résumé, le diabète de type 2 est associé à une résistance à l'insuline qui mène à l'hyperglycémie. L'inflammation et la dysfonction des cellules  $\beta$  sont les facteurs les plus importants induisant la résistance à l'insuline. De bonnes habitudes de vie et des traitements pharmacologiques permettent de limiter l'augmentation de la glycémie. Le diabète de type 2 est un des principaux facteurs de risque des complications microvasculaires et macrovasculaires.

## **2.2. Les maladies cardiovasculaires**

### **2.2.1. Définition et prévalence**

Les maladies cardiovasculaires regroupent un certain nombre de maladies dont la maladie coronarienne, l'insuffisance cardiaque, la maladie cérébrovasculaire, la maladie artérielle périphérique, les maladies cardiaques rhumatismales et congénitales qui affectent le cœur et les vaisseaux sanguins (OMS, 2020). Les maladies cardiovasculaires représentent la première cause de décès au monde (World Health, 2020). En 2016, 17.9 millions de personnes sont décédées d'une maladie cardiovasculaire, représentant ainsi 31% de tous les décès dans le monde (OMS, 2020). Selon l'organisation mondiale de la santé, il est estimé qu'en 2030 plus de 23.6 millions de personnes mourront d'une maladie cardiovasculaire (World Health, 2020). Au Canada, les maladies cardiovasculaires sont la deuxième cause de décès après le cancer et l'une des principales causes d'hospitalisation (Agence de la santé publique du Canada, 2018). Également au Canada, un coût total de 11.6% était attribué aux maladies cardiovasculaires. Celles-ci étaient les maladies la plus coûteuses au Canada (21.2 milliards de dollars en coûts directs et indirects), suivies par les maladies musculo-squelettiques (18.8 milliards de dollars) et le cancer (16.3 milliards de dollars) (Tarride et al., 2009). La prévalence des maladies cardiaques est plus élevée chez les hommes que chez les femmes. La prévalence augmente fortement chez les hommes après l'âge de 45

ans et chez les femmes après l'âge de 55 ans. La maladie coronarienne est la forme la plus courante de maladie cardiovasculaire. Selon les estimations, plus de 7 millions de personnes meurent chaque année de maladie coronarienne dans le monde, ce qui représente 12.8% de tous les décès (OMS, 2020). Au Canada, la prévalence associée à la maladie coronarienne augmente de plus en plus, passant d'environ 1.5 millions en 2001 à 2.4 millions en 2013 (Agence de la santé publique du Canada, 2018) (Figure 9).



**Figure 9 : Présentation graphique de la prévalence de la maladie coronarienne et de l'infarctus du myocarde au Canada.** La maladie coronarienne (CI) est présentée sous forme de barres bleu clair et l'infarctus du myocarde (IAM) sous formes de barres bleu foncé chez les Canadiens âgés de 20 ans entre les années 2000 et 2013. La prévalence de la maladie coronarienne et l'infarctus de myocarde est présentée sous forme de lignes (Agence de la santé publique du Canada, 2018).

### **2.2.2. Facteurs de risques de la maladie coronarienne**

Une combinaison de facteurs de risque non modifiables (âge, sexe, origine ethnique et génétique) et de facteurs de risque modifiables (obésité, hypertension, tabagisme, inactivité physique, dyslipidémie, mauvaise alimentation, stress et diabète de type 2) augmentent le risque de développer une maladie coronarienne. Au Canada, il a été rapporté que huit personnes sur dix présentent au moins un facteur de risque, alors qu'une personne sur dix présente trois facteurs de risque et plus (Fondation des maladies du cœur du Canada, 2003). Il a été estimé que 70% des maladies coronariennes et des accidents vasculaires cérébraux ainsi que 77% de l'insuffisance cardiaque pourraient être éliminés en évitant 4 facteurs de risque, dont l'hypertension artérielle, l'hypercholestérolémie, le diabète de type 2 et le tabagisme (Folsom et al., 2011; Hozawa et al., 2007).

Parmi les facteurs non-modifiables, le vieillissement est un facteur de risque majeur pour la maladie coronarienne. Une dysfonction endothéliale et une modification phénotypique telle qu'une rigidité artérielle, la calcification des artères et l'accumulation de collagène au niveau des cellules musculaires lisses sont observés avec l'âge (Lakatta & Levy, 2003). Le vieillissement est associé à une production dégrénerée des ROS et une production excessive de cytokines inflammatoires qui accélèrent la formation de plaque d'athérome. De plus, avec l'âge, les cellules musculaires lisses vasculaires ont une fonction plus proliférative ce qui accélère le dépôt de collagène et de fibrose pour rigidifier les vaisseaux (Tyrrell & Goldstein, 2021). Aux États-Unis, il a été observé que l'incidence des maladies cardiovasculaires, chez plus de 100 000 personnes suivies pendant 26 ans, augmente rapidement après l'âge de 40 ans (Roth et al., 2018). Le sexe est aussi un facteur de risque des maladies cardiovasculaires. Le risque des maladies cardiovasculaires est généralement deux fois plus élevé chez les hommes que chez les femmes pour la cardiopathie ischémique, la cardiomyopathie et l'anévrisme de l'aorte (Roth et al., 2018).

De nombreux troubles cardiovasculaires sont héréditaires affectant principalement le muscle cardiaque (comme la cardiomyopathie hypertrophique familiale), le système électrique (comme le syndrome du QT long) ou les marqueurs sanguins tels que le LDL (comme l'hypercholestérolémie familiale). Une étude a évalué les risques associés aux maladies cardiovasculaires familiales. Après 8 ans de suivis de plus de 2 300 personnes, les gens ayant des antécédents paternels avaient un risque de maladies cardiovasculaires de 75% de plus que ceux qui n'avaient pas d'antécédents paternels. Les gens avec des antécédents maternels avaient un risque d'environ 60% de plus que ceux qui n'avaient pas d'antécédents maternels (Kolber & Scrimshaw, 2014). Pour les facteurs modifiables, il existe des preuves solides du rôle de la sédentarité et de la malnutrition dans le développement des maladies cardiovasculaires dont la maladie coronarienne. Par exemple, dans une étude prospective plus de 7 000 hommes sédentaires âgés de 20 à 89 ans ont été suivis pendant 21 ans (Warren et al., 2010). Un comportement sédentaire se définissait par le temps passé à regarder la télévision et le temps passé à conduire une voiture. La conduite en voiture (>10 h / semaine) était significativement associée à une augmentation de 50% de la mortalité cardiovasculaire par rapport au groupe témoin (<4 h / semaine de conduite en voiture). Après avoir combiné le temps passé à conduire une voiture et le temps passé à regarder la télévision (> 23 h/semaine), les participants avaient 37% plus de risque de mortalité cardiovasculaire comparé aux personnes qui ont déclaré <11 heures/semaine (Warren et al., 2010).

Une malnutrition est aussi l'un des facteurs principaux contribuant au développement de maladies cardiovasculaires. Une étude d'intervention a suivi la consommation alimentaire de plus de 3 000 hommes et femmes (>18 ans) pendant 10 ans. Les auteurs ont observé qu'une diète méditerranéenne diminuait de 15% l'incidence des maladies cardiovasculaires. Ils ont aussi remarqué qu'une diète méditerranéenne était associée à un indice de masse corporelle (IMC) et à une résistance à l'insuline plus faible (Kastorini et al., 2016). L'étude *Prevention with Mediterranean Diet* (PREDIMED),

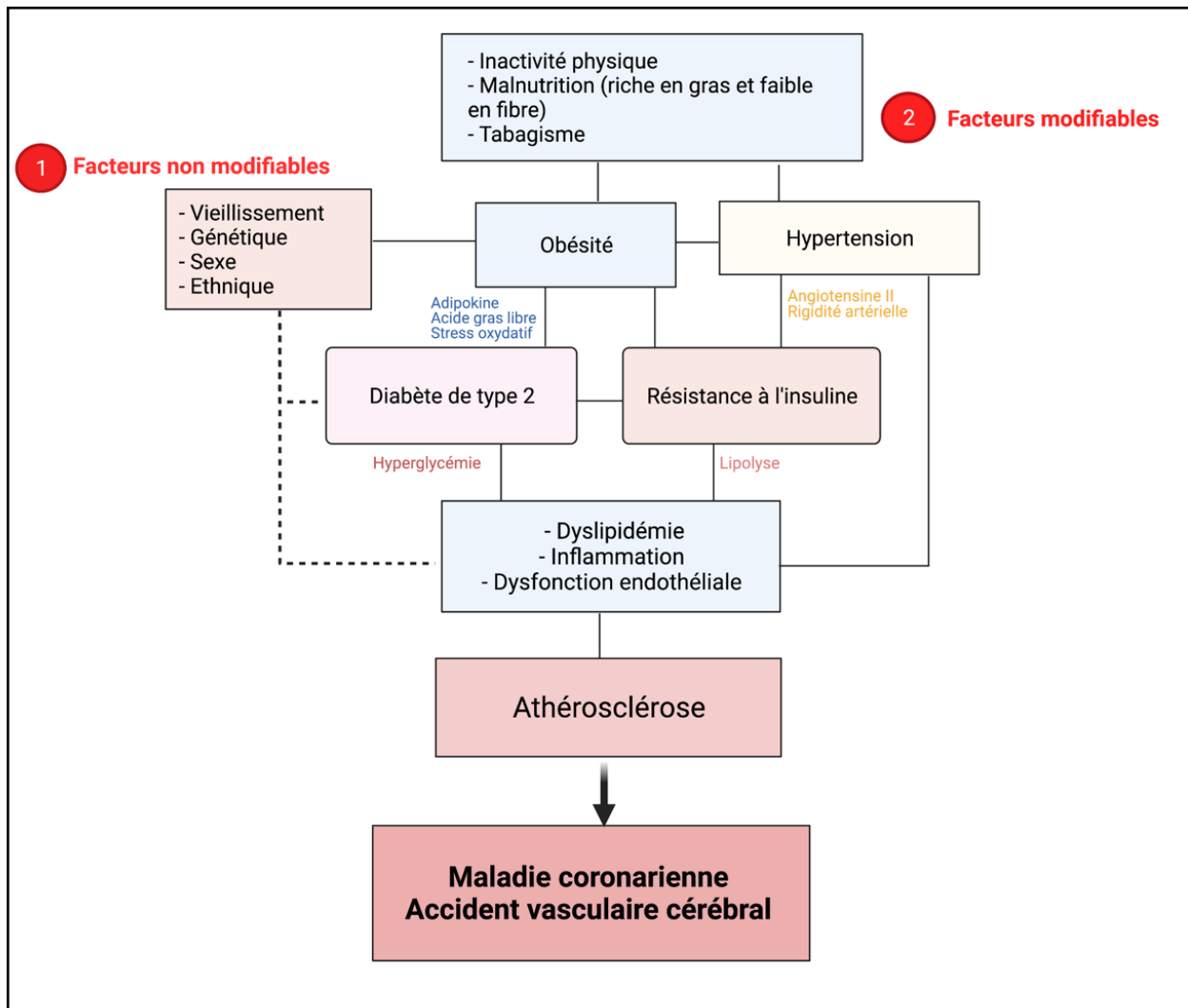


qui comprenait 7 447 personnes (55 à 80 ans) à haut risque de maladie cardiovasculaire, a montré une diminution de 30% d'événements cardiovasculaires (infarctus du myocarde, accident vasculaire cérébral ou mort cardiovasculaire) chez les participants assignés à une diète méditerranéenne (avec un supplément de noix et d'huile d'olive) après 5 ans de suivi par rapport au groupe témoin (aliments faibles en gras) (Estruch et al., 2018).

L'obésité est aussi associée au développement de la maladie coronarienne en induisant des changements anatomiques et fonctionnels dans les vaisseaux sanguins. Une dyslipidémie fréquemment observée chez les personnes obèses est fortement reliée à l'accélération de la formation de l'athérosclérose (Tietge, 2014). Les résultats d'une méta-analyse démontrent une forte association entre l'obésité et les maladies cardiométaboliques. L'analyse quantitative comprenait 881 692 participants âgés de 50 à 64 ans. L'étude a démontré une forte probabilité de développer un diabète de type 2 (67%) et des maladies cardiovasculaires (20%) avec l'obésité comparativement au groupe témoin non obèse (Riaz et al., 2018). L'étude INTERHEART a constaté qu'une obésité abdominale et la taille des hanches sont des marqueurs prédictifs de l'infarctus de myocarde (Yusuf et al., 2004).

L'hypertension artérielle est un autre facteur de risque important de maladie cardiovasculaire. Une étude qui comprenait 77 389 adultes âgés de 65 ans ayant une tension artérielle normale (120/80 mmHg, 8.8%), une pré-hypertension (39.8%), une hypertension de stade 1 (29.3%) et une hypertension de stade 2 à 3 (12,2%) ont été suivis pendant 4 ans (Wu et al., 2015). L'hypertension de stade 2 à 3 (pression systolique  $\geq 160$  et pression diastolique  $\geq 100$  mmHg) était associée à une augmentation de la mortalité de toutes causes confondues et de mortalité d'origine cardiovasculaire (Wu et al., 2015). L'hypertension est souvent associée à des troubles métaboliques, tels que la résistance à l'insuline ou une hyperinsulinémie, qui sont des facteurs de risque supplémentaires de maladie cardiovasculaire. La résistance à l'insuline et l'hyperinsulinémie compensatrice

peuvent jouer un rôle critique dans la formation d'athéromes. Généralement, en réponse à la sécrétion d'insuline, la synthèse des lipoprotéines est inhibée dans le foie et dans les tissus adipeux, afin de réguler le taux de triglycérides plasmatiques. Cependant, en présence d'une résistance à l'insuline, la production excessive d'acides gras libres circulants augmente ce qui provoque des dépôts de plaque athérosclérotiques (van Dam et al., 2017) (Figure 10). Une méta-analyse a démontré que l'augmentation d'une unité d'HbA1c peut augmenter le risque de maladie cardiovasculaire jusqu'à 18% (Selvin et al., 2004).



**Figure 10 : Représentation schématique des facteurs de risque impliqués dans le développement des maladies cardiovasculaires.** Les facteurs de risques modifiables et non modifiables peuvent causer l'athérosclérose et mener à des complications cardiovasculaires (Illustration créée avec Biorender).

### 2.2.3. Traitements des maladies cardiovasculaires

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), plus de 75% des maladies cardiovasculaires prématurées pourraient être évitées ou, du moins, retardées lorsque certains facteurs de risque sont contrôlés (OMS, 2020). La prévention primaire désigne l'ensemble des stratégies non pharmacologiques et pharmacologiques visant à éviter les événements cardiovasculaires. La prévention primaire regroupe les règles hygiéno-diététiques (alimentation saine, activité physique, arrêt du tabagisme), le dépistage et la prise en charge des facteurs de risque tels que l'hypertension artérielle, la dyslipidémie, l'obésité et le diabète. La prévention secondaire consiste, pour sa part, en un traitement pharmacologique ou en des interventions chirurgicales. Il s'agit d'une intervention personnalisée visant à augmenter l'espérance de vie et à prévenir le risque de rechute des événements cardiovasculaires chez les personnes ayant été victimes d'une angine de poitrine, d'un infarctus du myocarde, d'un accident vasculaire cérébral ou encore chez celles souffrant d'insuffisance cardiaque.

Les médicaments recommandés pour la prévention primaire et secondaire des maladies cardiovasculaires sont : les antiplaquettaires, les bêtabloqueurs, les statines, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion ou les inhibiteurs calciques et les facilitateurs des canaux potassiques (OMS, 2007). Le traitement par médication vise : **1)** diminuer la charge du travail cardiaque en réduisant la pression artérielle et la fréquence cardiaque par l'action des bêtabloqueurs et des inhibiteurs calciques ; **2)** améliorer le flux sanguin dans les artères coronaires par les médicaments vasorelaxants tels que le nitrate ; **3)** diminuer le cholestérol et les processus athéromateux par les statines (Tableau 3).

**Tableau 3: Les classes de médicaments pour les maladies cardiovasculaires (Kim et al., 2002).**

<b>Classe de médicament</b>	<b>Action</b>
<b>Bêtabloquants</b>	Se fixent sur les récepteurs bêta-adrénergiques et empêchent le flux calcique, ce qui induit une diminution de la contractilité et de la fréquence cardiaque.
<b>Bloqueurs des canaux calciques</b>	Diminuent le flux calcique en inhibant les canaux calciques, ce qui permet de réduire la contractilité et la fréquence cardiaque.
<b>Nitrates</b>	Stimulent les GCs qui conduit à la formation de GMPc et induisent la vasodilatation.
<b>Agents anti-plaquettaires</b>	Inhibent la production de thromboxane A2 (activateur plaquettaire), l'agoniste du récepteur plaquettaire (GP1Ib/IIa) et bloqueur de l'ADP, ce qui prévient la granulation plaquettaire et l'inflammation.
<b>Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine</b>	Inhibent la conversion de l'angiotensine I en angiotensine II, ce qui prévient la vasoconstriction et l'inflammation.
<b>Statines</b>	1) Inhibiteurs de HMG-CoA réductase, ce qui réduit la biosynthèse du cholestérol. 2) Stimulent la synthèse de eNOS et PI3K et améliorent la fonction endothéliale. 3) Inhibent l'activité Rho/Rock et diminuent le stress oxydatif et l'inflammation.

GCs : Guanylate cyclase soluble, GMPc : Guanosine monophosphate cyclique, ADP : adénosine diphosphate, HMG-CoA : Hydroxyméthylglutaryl-CoA reductase, eNOS : oxyde nitrique synthase endothéliale, PI3K : phosphoinositide 3-kinase.

### Prévention primaire

Pour la **prévention primaire**, l'étude INTERHEART a évalué la contribution de 9 facteurs de risques (tabagisme, taux élevé de lipides, hypertension, diabète, obésité, mauvaise alimentation, manque d'activité physique, consommation d'alcool et facteurs psychosociaux nuisibles) au risque d'infarctus du myocarde chez les hommes et les femmes de différentes régions géographiques. L'étude a démontré que le tabagisme, la dyslipidémie, l'hypertension et le diabète sont les facteurs majeurs de risques d'infarctus du myocarde (Yusuf et al., 2004). De fait, le tabagisme et la dyslipidémie multiplient par deux le risque d'infarctus du myocarde. D'un autre côté, les approches de prévention telle une alimentation équilibrée (riche en fibres, faible en gras) jumelée à de l'activité physique

régulière peuvent prévenir l'infarctus du myocarde (Yusuf et al., 2004). Ces deux paramètres diminuent le risque de maladie cardiovasculaire en agissant sur des facteurs de risque modifiables tels que la dyslipidémie, la pression artérielle, l'inflammation, le poids et le diabète (Krist et al., 2020). Plusieurs études ont également documenté que, indépendamment des facteurs de risque tel le tabagisme, l'âge ou l'alimentation, l'exercice réduit substantiellement le risque de crise cardiaque (Andersen et al., 2000), l'hypertension (Kokkinos et al., 2009) et le taux de cholestérol (Leon et al., 2000). De surcroît, une méta-analyse soulève une relation dose-réponse entre l'activité physique et le risque de maladie coronarienne. Trente-trois études de cohorte prospectives ont été sélectionnées pour l'analyse. Les participants étaient des hommes et des femmes d'âge moyen en santé ou étant initialement atteints du diabète de type 2. Le risque de maladie coronarienne était réduit de 20% chez les personnes pratiquant 300 minutes/semaine d'activité physique, de 14% chez les personnes pratiquant 150 min/semaine d'activité physique, et ce, en comparaison avec le groupe témoin qui ne pratiquait aucune activité physique (Sattelmair et al., 2011).

Le dépôt de lipides et la formation de plaques athéromateuses peuvent, pour leur part, être favorisés par l'augmentation de la pression transmurale dans les vaisseaux artériels ainsi que celle du stress mécanique. L'étude JUPITER a évalué l'utilisation des statines (Rosuvastatine) en prévention primaire chez les patients hypertendus. L'intervention incluait plus de 15 000 patients majoritairement hypertendus et en surpoids ne présentant aucune maladie cardiovasculaire. Les participants avaient un taux de cholestérol normal (LDL inférieur à 130 mg/dL), et présentaient une concentration élevée de protéine C-réactive (2.0 mg/L ou plus, un marqueur de l'inflammation) comparativement au groupe placebo. Après 2 ans de suivi, le taux de protéine C-réactive a été réduit de 37% et le taux de cholestérol LDL de 50% chez les patients consommant la statine (Ridker, 2009). Le deuxième traitement pharmacologique utilisé en prévention primaire consiste en l'utilisation de bêtabloquants. À cet effet, une méta-analyse sur 18

essais randomisés a démontré que les bêtabloquants peuvent prévenir les événements cardiovasculaires. Dans cette étude, 48 220 patients d'âge moyen et majoritairement hypertendus, mais sous médication de bêtabloqueurs, ont été suivis pendant environ 5 ans. Cette méta-analyse soulève que le traitement par bêtabloquants permet de diminuer le risque d'accident vasculaire cérébral (29%), de maladie coronarienne (7%) et d'insuffisance cardiaque (42%) comparativement au groupe placebo (Psaty et al., 1997).

### Prévention secondaire

À des stades avancés d'athérosclérose, la plaque d'athérome réduit la lumière de l'artère, induisant ainsi une obstruction partielle du flux sanguin. Dans ce cas, l'apport de sang oxygéné au muscle du myocarde peut devenir insuffisant, condition appelée ischémie myocardique. En outre, une rupture de plaque provoque fréquemment la formation d'un thrombus qui, lui, bloque complètement le flux sanguin causant ainsi une ischémie myocardique aiguë. Les conséquences de cette dernière sont une angine instable ou un infarctus du myocarde et nécessitent donc des interventions chirurgicales. Les traitements proposés en **prévention secondaire** sont également utilisés en prévention primaire, mais incluent en plus une revascularisation de l'artère obstruée par angioplastie et/ou par pontage (Kieser et al., 2013). L'angioplastie permet d'élargir les vaisseaux obstrués pour empêcher l'artère de s'obstruer de nouveau. Elle consiste à insérer un cathéter d'environ deux millimètres dans le réseau artériel (radial ou fémoral), puis à acheminer un ballon et une endoprothèse (un tube en tissu synthétique) au site de la sténose. Ensuite, le ballon est gonflé pour dilater à la fois l'artère et l'endoprothèse. Le ballon est ensuite dégonflé, laissant en place l'endoprothèse, ce qui permet de dilater la lumière de l'artère coronaire (Maillard et al., 1999). Les cellules tapissant le vaisseau sanguin se multiplient autour de l'endoprothèse de sorte à la maintenir en place. Le pontage est une intervention plus invasive rendue nécessaire lorsque les artères deviennent complètement obstruées. Cette chirurgie consiste à greffer les artères défectueuses par des artères ou des veines de d'autres parties du corps telles que la

veine saphène (veine superficielle de la jambe) ou l'artère mammaire interne (Kieser et al., 2013). La réadaptation cardiovasculaire fait également partie de la prévention secondaire basée sur des programmes d'activité physique et des règles hygiéno-diététiques. En tant que traitement non pharmacologique, l'activité physique est prescrite par le cardiologue après un bilan d'évaluation qui permet de personnaliser le programme. Outre l'amélioration du pronostic, les avantages cliniques de ce traitement sont bien documentés. On retrouve notamment l'amélioration des fonctions cardiovasculaires, pulmonaires et musculaires, de l'inflammation, des symptômes dépressifs, du stress et même des fonctions cognitives. Une méta-analyse réalisée chez 13 824 patients soutient qu'un programme de réadaptation cardiaque fondé sur l'activité physique réduit de 26 % le risque de mortalité d'origine quelconque et de 30 % la mortalité d'origine cardiaque lorsqu'il est comparé au traitement habituel (Oldridge, 2012). Cet effet sur le pronostic est associé à une diminution de 31 % du risque de ré-hospitalisation dans les 12 mois suivant la réadaptation (Heran et al., 2011). Après une chirurgie cardiaque, la réduction de mortalité s'élève à 46% chez les patients ayant bénéficié d'un programme de réadaptation cardiaque après 10 ans de suivi (Pack et al., 2013). Pour ce qui est des traitements médicamenteux, une méta-analyse a évalué l'effet des bêtabloquants en prévention secondaire. En analysant les dossiers de plus de 69 000 patients post-infarctus du myocarde, l'étude a révélé que les bêtabloquants réduisent le risque de morbidité chez cette population (Freemantle et al., 1999), et ce, indépendamment du type de récepteurs  $\beta$  ciblé (Gottlieb & McCarter, 2001).

#### **2.2.4. Physiologie du système vasculaire**

Le système vasculaire est un système circulatoire transportant le sang chargé d'oxygène et de nutriments aux cellules, ce qui permet d'assurer la croissance et le développement de l'organisme (Pugsley & Tabrizchi, 2000). Le système vasculaire est composé de 4 types de vaisseaux ; les artères, les artérioles, les veines et les capillaires. Les artères sont les vaisseaux de plus gros calibre partant du cœur et sont constituées

de 3 couches ; **1- L'intima** : la couche interne étant en contact direct avec le sang, constituée des cellules endothéliales. Cette couche possède différentes propriétés fonctionnelles dont la régulation de la perméabilité vasculaire, l'agrégation des plaquettes, la vasoconstriction ou vasodilatation et la régulation de l'inflammation. **2- La média** : la couche moyenne qui varie selon le type d'artère. Pour les artères élastiques, la média est constituée de fibres élastiques et musculaires. Cette couche permet le maintien du tonus et de la résistance vasculaire tout en transformant le débit pulsatile en un débit continu pour diminuer la pression artérielle à la sortie du cœur. Pour les artères musculaires, la média est plutôt constituée de fibres musculaires lisses qui permettent de réguler le débit sanguin en se contractant ou en se relaxant face à des stimuli neuronaux ou hormonaux. **3- L'adventice** : la couche externe, constituée d'un tissu conjonctif riche en collagène, d'élastine et de fibroblastes, empêche la rupture des vaisseaux lors de pressions élevées. L'adventice est constituée des vasa vasorum (système capillaire) qui apportent les nutriments aux cellules les plus éloignées de la lumière du vaisseau et des fibres nerveuses qui rejoignent les cellules musculaires lisses de la média (Kohn et al., 2015). Les trois couches sont reliées entre elles par une lame élastique composée de fibres d'élastine.

Il existe deux types d'artères : les artères élastiques (ex. : aorte, carotide) et musculaires (ex. : fémorale). Le rôle principal des artères élastiques est de tamponner le flux artériel et les variations de pression induites par les contractions du ventricule gauche. Le rôle principal des artères musculaires est, quant à lui, de distribuer le sang oxygéné provenant du poumon, du ventricule gauche jusqu'aux organes internes et d'adapter le débit sanguin en fonction des besoins métaboliques de la région. Les artérioles sont des vaisseaux de calibre moyen qui possèdent une structure similaire aux artères, mais avec une tunique intermédiaire (média) variable en fonction de leur taille. Grâce à leurs capacités vasomotrices, les artérioles déterminent le débit local. Elles diminuent la résistance vasculaire par vasodilatation et augmentent la pression artérielle par



vasoconstriction (Kohn et al., 2015). Contrairement à l'artère, les veines ramènent le sang appauvri en oxygène et riche en gaz carbonique des organes vers le cœur et les poumons. Les veines, tout comme les artères, sont constituées de 3 couches (intima, média, adventice) possédant la capacité de se dilater. Certaines comportent des valvules, empêchant ainsi le retour sanguin (ex. : les veines au niveau des jambes). Les capillaires sont les plus petits vaisseaux du système sanguin et relient les artères aux veines. Les capillaires sont dotées d'une monocouche de cellules endothéliales jouant un rôle de barrière et assurant le passage des macromolécules (via leurs pores) dans les tissus où les échanges moléculaires sont importants (intestin, rein) (Zhdanov, 1964). Les capillaires fournissent aux cellules les molécules liposolubles ( $O_2$ ) par diffusion passive à travers leur paroi. Les molécules non liposolubles (eau, ions, glucose) diffusent au niveau des jonctions entre les cellules endothéliales et les grosses molécules non liposolubles (protéines) par endo- ou exocytose. Les capillaires captent également le sang appauvri en dioxygène et riche en dioxyde de carbone pour les ramener à l'oreillette droite, puis éventuellement au ventricule droit du cœur pour finalement aboutir vers les alvéoles pulmonaires. Dans les alvéoles pulmonaires, le sang est oxygéné pour ensuite retourner dans le ventricule gauche par l'entremise de l'oreillette gauche.

#### **2.2.4.1. Endothélium vasculaire**

L'endothélium, situé au niveau de l'intima, est une monocouche de cellules endothéliales tapissant la paroi interne des vaisseaux. Les cellules endothéliales sont attachées entre elles par des jonctions cellulaires (jonctions adhérentes, jonctions serrées et jonctions communicantes) afin d'assurer le maintien de la structure vasculaire (Michiels, 2003; Toborek & Kaiser, 1999). La surface luminale de ces cellules étant recouverte de glycocalyx (constituée de protéoglycanes et de glycoprotéines) et chargée négativement, empêche l'adhésion et l'agrégation des plaquettes et des leucocytes (Cao et al., 2019). En réponse à différents stimuli physiques (ex. : contraintes de cisaillement) et chimiques (ex. : acétylcholine, insuline), l'endothélium régule le tonus vasculaire par la sécrétion de

nombreux facteurs vasoconstricteurs tels que l'endothéline-1 (ET-1), la thromboxane A<sub>2</sub>, l'angiotensine II (Ang2), et vasodilatateurs comme le NO et la prostacycline (PGI<sub>2</sub>) (Michiels, 2003; Triggle et al., 2012). L'endothélium régule aussi l'activité anti-thrombotique en sécrétant des substances favorisant l'inhibition des facteurs de coagulation (serpine) et l'adhésion des plaquettes (NO), mais également la dissolution des caillots (héparine). À l'inverse, l'endothélium sécrète des substances (plasminogène inhibiteur 1, von Willebrand) qui permettent l'agrégation et l'adhésion des plaquettes lors de dommages tissulaires telle une blessure (Wu & Thiagarajan, 1996). De plus, l'endothélium joue un rôle critique dans la réponse immunitaire et le contrôle du trafic des leucocytes. L'endothélium recrute les cellules immunitaires au site d'inflammation et exprime des protéines d'adhésion telles que les sélectines (L-sélectine, P-sélectine et E-sélectine) et les intégrines (VCAM-1 et ICAM-1) ce qui favorise l'adhésion des leucocytes et monocytes au site d'inflammation (Félétou & Vanhoutte, 2006).

#### **2.2.4.2. Stimuli physiologiques du tonus vasculaire**

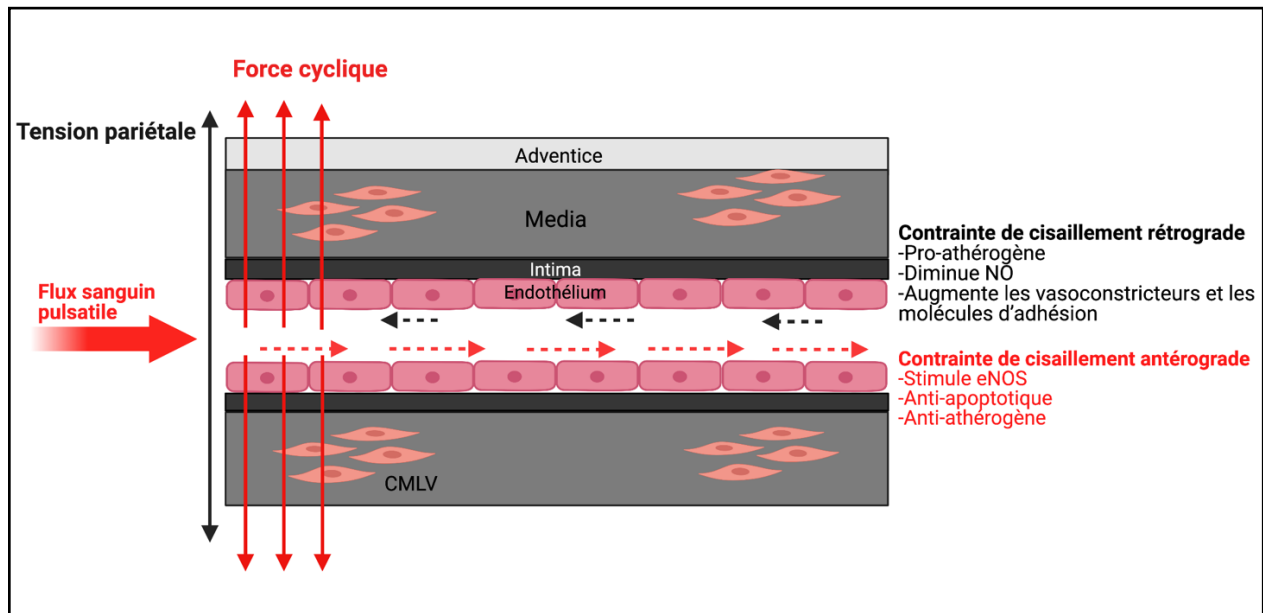
Les cellules endothéliales sont soumises directement à trois forces mécaniques dynamiques. La première est la tension pariétale basale liée à la pression artérielle moyenne appliquée perpendiculairement et de façon permanente sur la paroi des vaisseaux. La deuxième est la force cyclique de la paroi vasculaire et est appliquée de façon circonférentielle en réponse aux changements cycliques de la pression artérielle sur les vaisseaux (Ballermann et al., 1998). La troisième est une pression tangentielle, appelée **la contrainte de cisaillement**, exercée parallèlement à la surface de l'endothélium et est due au frottement induit par le flux sanguin (Ballermann et al., 1998) (Figure 11). La contrainte de cisaillement peut être différenciée en « **cisaillement antérograde** », représentant la force qu'exerce l'écoulement du sang vers la périphérie pendant la systole, et en « **cisaillement rétrograde** », traduisant la force qu'exerce le retour sanguin vers le cœur pendant la diastole. La contrainte de cisaillement est

proportionnelle au débit sanguin (Q) et à la viscosité sanguine ( $\mu$ ) et inversement proportionnelle au rayon artériel (r) selon l'équation suivante :

$$\text{Contrainte de cisaillement} = 4Q\mu/\pi r^3$$

Un écoulement uniforme du sang est appelé flux laminaire et comprend une composante importante de contrainte de cisaillement antérograde, alors que le flux oscillatoire comprend une composante importante de contrainte de cisaillement rétrograde (Van de Vosse et al., 1990). En condition physiologique, la contrainte de cisaillement laminaire est de 10 à 25 dynes/cm<sup>2</sup>, alors que celle oscillatoire est de -4 à -5 dynes/cm<sup>2</sup> (Li et al., 2009). La contrainte de cisaillement affecte directement la morphologie et l'orientation des cellules endothéliales ce qui peut avoir un effet antiathérogène ou pro-athérogène (Claudia Goettsch, 2009). Par exemple, la contrainte de cisaillement antérograde stimule directement la eNOS, induisant la synthèse de NO, qui, à son tour, inhibe les molécules d'adhésion afin de créer un environnement anti-athérogène (Traub & Berk, 1998). À l'inverse, l'athérosclérose se développe dans les bifurcations coronaires ou dans les bifurcations des vaisseaux sanguins où le flux est oscillatoire (Figure 11).

Une dysfonction endothéliale est souvent attribuée à l'augmentation de la contrainte de cisaillement rétrograde. Des études animales démontrent que l'exposition à la contrainte de cisaillement rétrograde augmente l'expression des vasoconstricteurs (ET-1) (Ziegler et al., 1998) et des molécules d'adhésion (ICAM-1 et VCAM-1) (Chappell et al., 1998) en plus de diminuer l'expression de NO (Hwang et al., 2003). Plusieurs études suggèrent que la force de cisaillement oscillatoire augmente le nombre de molécules d'adhésion et de cytokines pro-inflammatoires (Chappell et al., 1998; Galis et al., 1998; McNally et al., 2003). L'exposition de l'endothélium à la force de cisaillement oscillatoire ou à un stress oxydatif endommage les glycocalyx qui, eux, protègent l'endothélium et maintiennent la biodisponibilité de NO (Chelazzi et al., 2015).



**Figure 11 : Représentation schématique des types de forces hémodynamiques exercées sur les cellules de la paroi vasculaire.** Les vaisseaux sanguins sont soumis à trois types de forces mécaniques: la tension pariétale, la force cyclique et la contrainte de cisaillement. Ces trois forces mécaniques agissent sur les cellules endothéliales et musculaires lisses vasculaires (CMLV) pour modifier leurs phénotypes. La contrainte de cisaillement représente la force appliquée au niveau de l'endothélium vasculaire par le flux sanguin. Celle antérograde concorde avec la direction du flux sanguin et induit des adaptations anti-athérogènes, tandis que la contrainte de cisaillement rétrograde représente le flux retournant vers le cœur et induisant des adaptations pro-athérogènes. La tension pariétale est perpendiculaire à l'axe long du vaisseau et est responsable de l'augmentation de la longueur du vaisseau en systole. La force cyclique est, quant à elle, responsable de la dilatation du vaisseau (Illustration créée avec Biorender).

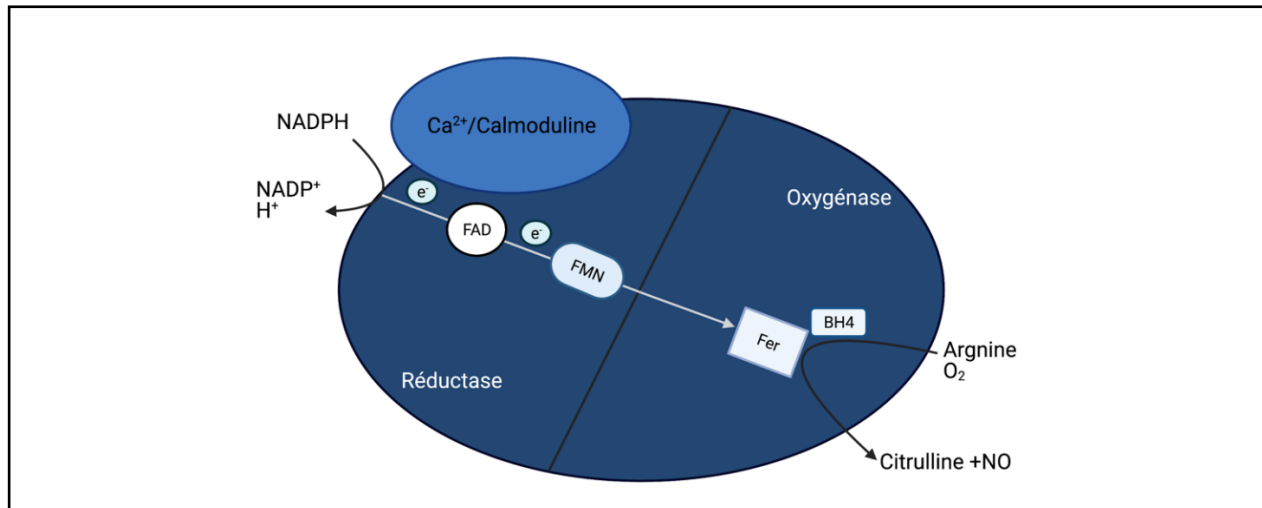
#### 2.2.4.3. Signalisation du monoxyde d'azote (NO)

Une multitude d'éléments moléculaires participent à la détection des forces mécaniques exercées sur l'endothélium. Parmi ceux-ci, on peut citer les glycocalyx, les canaux ioniques, le cytosquelette, les récepteurs à activité tyrosine kinase, les protéines G, les intégrines et la molécule d'adhésion des cellules endothéliales (Ando & Yamamoto, 2013). Ces mécanorécepteurs traduisent le stimulus mécanique en une série de stimuli chimiques, modulant ainsi la fonction vasculaire. L'activation des mécanorécepteurs

entraîne l'augmentation de la concentration du calcium intracellulaire  $[Ca^{2+}]$  en favorisant un afflux de calcium produit par les canaux *transient receptor potential* (TRP) sensibles à l'étirement (Martinac, 2004; Weinbaum et al., 2003). Il a été proposé que le glycocalyx agit comme la première étape du processus, en détectant les forces dynamiques du fluide afin d'activer les canaux TRP. L'augmentation du calcium dans la cellule atteint son pic à une contrainte de cisaillement de  $10 \text{ dynes/cm}^2$  (Jafarnejad et al., 2015). L'augmentation de la  $[Ca^{2+}]$  aboutira à la réorganisation du cytosquelette d'actine et à la synthèse des substances vasodilatatrices via l'activité de la eNOS. Cette dernière se présente sous forme de dimère localisé dans des cavéoles au niveau de la membrane plasmique des cellules endothéliales. Les cavéoles sont des microdomaines de 50 à 100 nm enrichis de lipides (cholestérol, glycosphingolipides, sphingomyéline), de glycolipides et de protéines membranaires (Anderson et al., 1992). Une protéine inhibitrice appelée caveoline-1 assure la structure inactive de la eNOS dans les cavéoles (Michiels, 2003). Le calcium libéré par les canaux TRP se lie à la calmoduline présente dans le milieu intracellulaire. Le complexe calcium/calmoduline permet la phosphorylation de la PI3K/AKT. La phosphorylation dissocie la eNOS de la cavéoline-1, permettant ainsi son activation (Harris et al., 2001). La eNOS est constituée de 2 domaines : **1) Le domaine oxygénase (N-terminale)** : contient le site de liaison pour le fer et le cofacteur tétrahydrobioptérine (BH4) ; **2) Le domaine réductase (C-terminale)** : contient le site de reconnaissance de calcium/calmoduline et des sites de liaison pour les cofacteurs flavine adénine dinucléotide (FAD), flavine mononucléotide (FMN) et nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) (Ghosh & Stuehr, 1995).

L'efficacité fonctionnelle de la eNOS dépend du couplage entre les deux sous-unités, mais aussi de la biodisponibilité de son substrat (L-arginine) et de son cofacteur principal (BH4) (Schmidt & Alp, 2007). Une fois dissocié de la cavéoline-1, la eNOS est produite à travers 5 étapes principales: **1) le domaine NADPH oxydase** capture les électrons du NADPH; **2) les électrons** sont transférés dans le domaine de l'hème

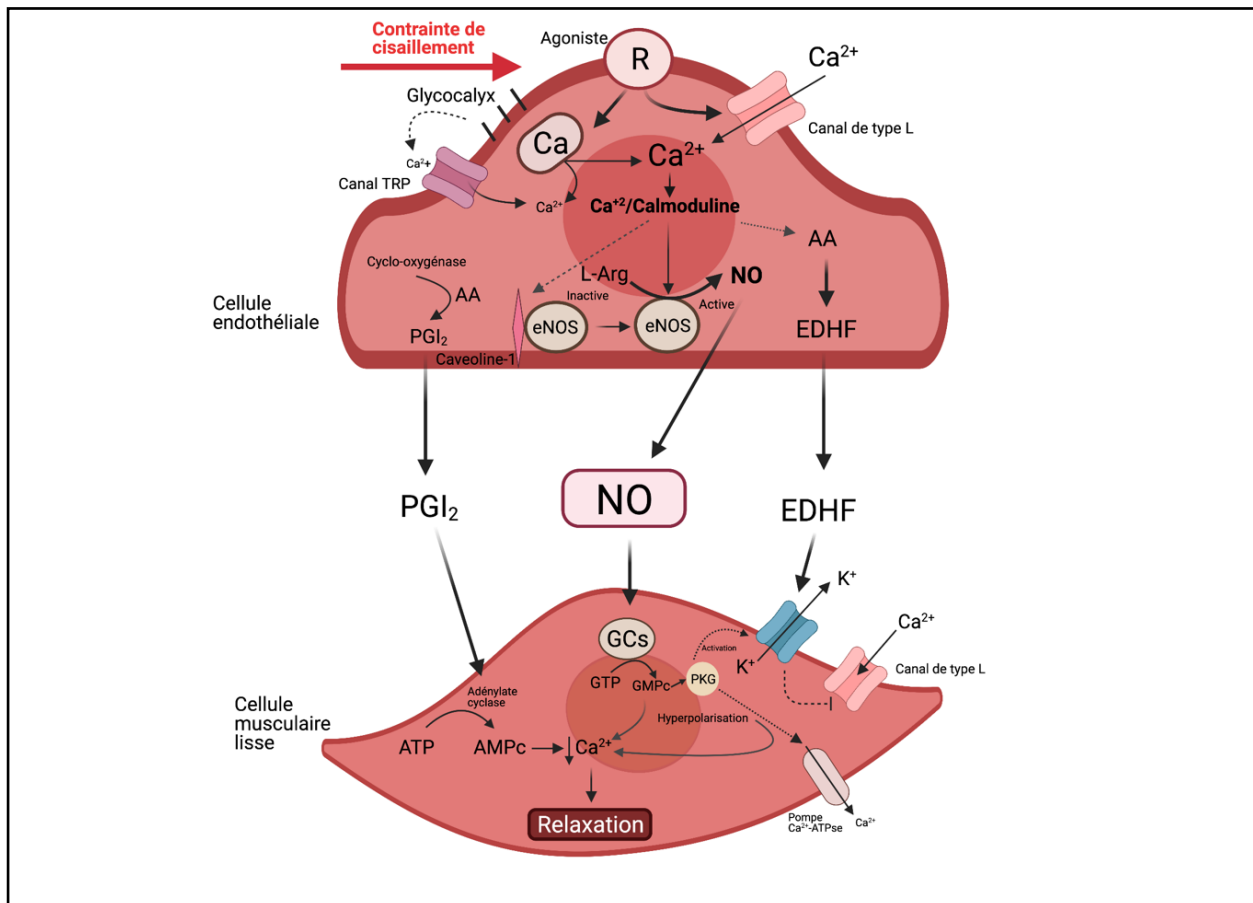
oxygénase en utilisant FAD, FMN et calcium/calmoduline; **3**) l'oxygène lié au domaine de l'hème oxygénase reçoit les électrons; **4**) l'arginine se lie au domaine de l'hème oxygénase; et **5**) à l'aide du cofacteur BH<sub>4</sub>, l'arginine génère de la L-citrulline et du NO (Cinelli et al., 2020; Guengerich & Macdonald, 1984) (Figure 12). La concentration de NO augmente progressivement à un stimulus de 10 à 20 dynes/cm<sup>2</sup> (Fadel et al., 2009).



**Figure 12 : Représentation schématique de la structure et la synthèse de l'enzyme NOS endothéliale.** L'oxyde nitrique synthase (NOS) est une enzyme catalysant la production du monoxyde d'azote (NO) et de citrulline. La liaison à la calmoduline est provoquée par une augmentation du Ca<sup>2+</sup> intracellulaire. Cela facilite le flux d'électrons du nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) dans le domaine réductase vers l'hème (Fer) dans le domaine oxygénase. Le transfert d'électrons nécessite le cofacteur flavine mononucléotide (FMN), la flavine adénine dinucléotide (FAD), puis la tétrahydrobioptérine (BH<sub>4</sub>) (Illustration créée avec Biorender, inspiré de (Alderton et al., 2001)).

Une fois libéré en circulation, le NO maintient l'homéostasie vasculaire. Il exerce un effet antiagrégant et antiadhésif sur les plaquettes en augmentant les concentrations plaquettaires d'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) (Moncada & Higgs, 1993) ou en inhibant l'adhésion des leucocytes par la diminution de l'expression de molécules d'adhésion (ICAM-1 et VCAM-1) (Toborek & Kaiser, 1999). D'autre part, le NO diffuse

vers les cellules musculaires lisses. À cet effet, le NO réagit avec l'ion fer de *guanylate cyclase* soluble (GCs) des cellules musculaires lisses, qui est responsable de convertir le GTP en GMPc. Ce dernier peut ensuite activer la protéine kinase G (PKG), ce qui réduit les interactions actine et myosine et favorise la réabsorption du calcium cytosolique dans le réticulum sarcoplasmique, l'expulsion du calcium à l'extérieur de la cellule et l'ouverture des canaux potassiques calcium-dépendants (Alderton et al., 2001). Ces mécanismes provoquent la relaxation des vaisseaux. Le NO peut également être produit par la stimulation d'agonistes tels que l'acétylcholine et la bradykinine, provoquant l'augmentation du calcium intracellulaire. Le calcium se liera ensuite à la calmoduline, provoquant l'activité de la eNOS et la production de NO qui, à son tour, exercera ses fonctions vasodilatatrices (Fleming & Busse, 1999) (Figure 13).



**Figure 13 : Représentation schématique de la signalisation de la synthèse du monoxyde d'azote (NO).** Les mécanorécepteurs (glycocalyx, protéine G) détectent les stimuli physiques (contrainte de cisaillement) ou chimiques (acétylcholine) et entraînent un influx calcique intracellulaire généré par les canaux *transient receptor potential* (TRP). Le calcium intracellulaire se lie à la calmoduline pour activer l'enzyme *endothelial nitric oxide synthase* (eNOS). L'enzyme eNOS produit, à son tour, la citrulline et le NO qui diffusent ensuite au niveau du muscle lisse vasculaire. Le NO se lie à la guanylate cyclase soluble (GCs) qui convertit le GTP en une molécule messagère intracellulaire, le guanosine monophosphate cyclique (GMPc). Cette augmentation de GMPc dans le muscle lisse active une série de protéines kinases, dont les protéines kinases G (PKG) qui contrôlent la concentration intracellulaire de calcium et la sensibilité du muscle lisse au calcium. La diminution du calcium intracellulaire est induite par une stimulation du canal potassique, une activation de la pompe  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase et une inhibition du canal membranaire calcique, ce qui a pour effet final d'induire une vasodilatation. PGI<sub>2</sub> : prostacycline, EDHF : facteur d'hyperpolarisation dérivé de l'endothélium, AA : acide arachidonique. AMPc : adénosine monophosphate cyclique, GTP : guanosine triphosphate (Illustration créée avec Biorender, inspirée de (Fonseca et al., 2016)).

#### **2.2.4.4 Signalisation du facteur hyperpolarisant dérivé de l'endothélium (EDHF) et de la prostacycline (PGI<sub>2</sub>)**

En plus du NO, la prostacycline (PGI<sub>2</sub>) et le facteur hyperpolarisant dérivé de l'endothélium (EDHF) sont impliqués dans la dilatation des cellules musculaires lisses vasculaires. L'EDHF est généralement connu pour avoir un rôle important dans la modulation du tonus vasomoteur, en particulier au niveau des microvaisseaux de résistance. L'EDHF est synthétisé par la liaison d'agonistes à des récepteurs spécifiques (ex : ACh) et par la contrainte de cisaillement. L'augmentation du calcium intracellulaire par l'ACh ou la contrainte de cisaillement active la phospholipase A2 pour produire de l'acide arachidonique (AA). En présence de cytochrome P450, l'AA génère les acides eicosatriénoïques (EET). Ensuite, les EET stimulent à leur tour les canaux potassiques activés par le  $\text{Ca}^{2+}$  ( $\text{K}_{\text{Ca}^{2+}}$ ) au niveau de l'endothélium, contribuant à la libération de EDHF (Ozkor & Quyyumi, 2011). L'EDHF active les canaux potassiques ( $\text{K}_{\text{Ca}^{2+}}$ ,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase), qui provoquent la dépolarisation et la relaxation des cellules musculaires lisses vasculaires en fermant les canaux calciques voltage-dépendants (Féléto & Vanhoutte, 2006). Finalement, le troisième facteur qui contrôle le tonus vasculaire est la prostacycline



(PGI<sub>2</sub>). La PGI<sub>2</sub> formé par l'endothélium traverse la membrane de la cellule endothéliale, agit sur son récepteur localisé sur le muscle lisse et active l'adénylylcyclase des cellules musculaires lisses vasculaires (Dorris & Peebles, 2012). L'adénylylcyclase conduit à son tour à une augmentation de l'adénosine monophosphate cyclique (AMPc). L'augmentation de l'AMPc conduit alors à l'activation de la PKA et aboutit à la relaxation du muscle lisse vasculaire (Dorris & Peebles, 2012) (Figure 13).

### **2.2.5. Pathophysiologie des maladies cardiovasculaires**

Dans les maladies cardiovasculaires, la maladie coronarienne est généralement initiée par l'athérosclérose, soit un dépôt de lipides et d'éléments fibreux au niveau de l'endothélium des artères de gros et de moyens calibres. Le stress oxydatif et l'inflammation jouent un rôle prépondérant dans le développement de la plaque athérosclérotique. Ces facteurs contribuent également à la prolifération et à l'apoptose des cellules endothéliales ou encore à la vasoconstriction des vaisseaux sanguins, entraînant ainsi une dysfonction endothéliale. La formation de plaque d'athérosclérose diminue la lumière artérielle, donc l'écoulement du sang vers le myocarde par le fait même. Le syndrome coronaire aigu est défini par une douleur thoracique cliniquement évocatrice d'une origine coronaire, associée ou non à des modifications électrocardiographiques. L'infarctus du myocarde est défini par une nécrose cardiomyocytaire secondaire à une ischémie myocardique. Son diagnostic repose sur une élévation significative de la troponine associée à des signes cliniques, électriques et d'imagerie coronaire.

Le syndrome coronaire aigu, avec ou sans infarctus du myocarde, signale donc le début de la maladie coronaire chez le patient (Roffi et al., 2016). Dans les sections suivantes, nous aborderons la dysfonction endothéliale et la maladie coronarienne, soit les principaux sujets de cette thèse.

### 2.2.5.1. Dysfonction endothéliale

La dysfonction endothéliale est un événement précoce dans la pathogenèse de l'athérosclérose et du développement de la maladie coronarienne (Huynh & Heo, 2019). Elle est généralement marquée par une baisse de la synthèse d'agents vasodilatateurs, et d'une augmentation des agents vasoconstricteurs, de l'agrégation plaquettaire, de la prolifération et la migration des cellules musculaires lisses vasculaires, de l'adhérence des leucocytes et de l'augmentation du stress oxydatif et de l'inflammation vasculaire (Huynh & Heo, 2019). La biodisponibilité réduite de NO résulte à la fois d'une réduction de synthèse ou d'une plus grande dégradation par les espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui semblent être la principale cause de la dysfonction endothéliale.

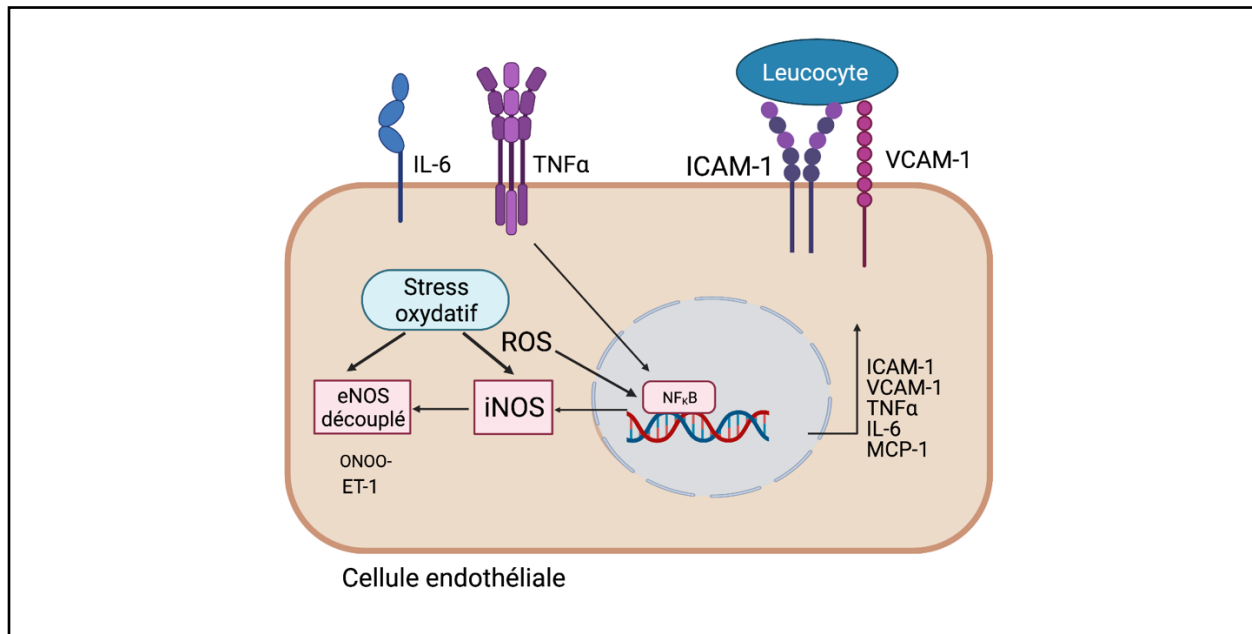
Le NO considéré comme la molécule anti-athérogène exerce un effet anti-inflammatoire. Les ROS, tels que l'anion superoxyde ( $O_2^-$ ) et le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), contiennent un ou plusieurs électrons libres qui sont naturellement produits lors du métabolisme oxydatif dans la mitochondrie ou générés par des enzymes intracellulaires (NADPH oxydase et xanthine oxydase) (Bedard & Krause, 2007). Toutes les réactions moléculaires impliquent le transfert d'un ou de plusieurs électrons. En général, un gain d'électrons est appelé la réduction et une perte d'électrons est appelée l'oxydation. À des concentrations physiologiques, les ROS agissent comme un important second messenger dans des processus biologiques tels que l'organisation du cytosquelette, l'activation des canaux ioniques, la signalisation vasculaire impliquant la protéine kinase activée par un mitogène et la kinase c-Jun N-terminal kinase (JNK) ainsi que le  $NF\kappa B$  (Bae et al., 2011). Les ROS sont aussi impliquées dans le métabolisme énergétique tel que la respiration mitochondriale et les processus de défense contre la phagocytose, dans le cadre de l'inflammation et la réparation des blessures (Dröge, 2002; Thannickal & Fanburg, 2000). Généralement, leurs concentrations sont équilibrées par les vitamines et les enzymes antioxydantes qui agissent au niveau intracellulaire et extracellulaire pour rendre les ROS moins réactives. Cependant, lorsque la production de

ROS dépasse la capacité des antioxydants, un stress oxydatif se produit et cela endommage les protéines, les lipides et les glucides (Halliwell, 1994). **Le stress oxydatif** joue un rôle majeur dans la survenue de la dysfonction endothéliale. Les ROS en excès peuvent inhiber l'activité de la GC soluble par oxydation de  $Fe^{2+}$  en  $Fe^{3+}$  ce qui la rend insensible au NO. Un excès de ROS peut aussi oxyder le BH4 en BH2 qui ne serait plus en mesure de fonctionner comme un cofacteur de la eNOS, conduisant ainsi au découplage d'eNOS. Les ROS en excès peuvent aussi agir avec le NO présent en circulation pour former du peroxydant (ONOO<sup>-</sup>) (Xia et al., 1998). Le ONOO<sup>-</sup> peut avoir des effets délétères sur l'activité de l'enzyme eNOS (Förstermann & Münzel, 2006). Une baisse de la biodisponibilité de NO favorise la production des molécules vasoconstrictrices (Cardillo et al., 2000). La diminution de la biodisponibilité de NO fait en sorte que l'endothélium n'assure plus efficacement sa fonction de barrière et provoque l'expression des molécules d'adhésion leucocytaire (E-sélectine, P-sélectine, ICAM-1, VCAM-1) et l'agrégation plaquettaire à la surface de l'endothélium (Muller, 2013). Ces dernières, ainsi que les cytokines pro-inflammatoires, induisent le recrutement des monocytes, le roulement et l'adhésion des leucocytes présents en circulation pour initier le développement de l'athérosclérose (Figure 14).

En plus du stress oxydatif, **l'inflammation** est aussi un déclencheur potentiel de la dysfonction endothéliale. En réponse à des stimuli inflammatoires (ROS et molécules d'adhésion), le facteur de transcription NF $\kappa$ B va migrer dans le noyau pour induire la transcription de plusieurs cytokines pro-inflammatoires, telles que TNF- $\alpha$  et IL1 qui vont aboutir à l'inflammation (Pall, 2007). Le TNF- $\alpha$  produit par les neutrophiles et les macrophages peut induire d'autres puissantes cytokines telles que l'IL-6. Les cytokines pro-inflammatoires stimulent la réplication de NF $\kappa$ B qui amplifie davantage la réponse inflammatoire par une production plus importante de cytokines. En parallèle, les récepteurs de type Toll (TLR) qui sont des protéines membranaires présentes à la surface des cellules du système immunitaire inné (macrophages et cellules dendritiques),

déclenchent des réponses inflammatoires en activant la voie NF $\kappa$ B. Ce dernier stimule la protéine chimioattractrice monocyttaire 1 (MCP-1) qui a des propriétés d'adhésion cellulaire et de recrutement des leucocytes mais aussi l'induction de l'expression des cytokines pro-inflammatoires. Le NF $\kappa$ B est aussi responsable de l'expression des molécules d'adhésion et de l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS) dans les vaisseaux sanguins. La iNOS limite la biodisponibilité de BH4 en compétitionnant avec la L-arginine ce qui empêche la synthèse de la eNOS. Tous ces facteurs (cytokines, molécules d'adhésion, macrophages) diminuent la synthèse de NO ce qui favorise la synthèse d'endothéline 1 (ET-1), qui est un puissant vasoconstricteur. À des doses élevées, l'ET-1 se lie à son récepteur ET-A au niveau du muscle lisse vasculaire favorisant la vasoconstriction (Bourque et al., 2011). La dysfonction endothéliale, se manifeste par l'incapacité de l'artère à se dilater due à la carence de production de NO.

Outre le NO, les EET peuvent aussi contribuer à la dysfonction endothéliale. Les EET peuvent aussi activer plusieurs protéines kinases intracellulaires, notamment les MAPK et les protéines kinases 1 et 2 à régulation extracellulaire (Erk1/2) et augmenter la prolifération de diverses cellules, y compris les cellules musculaires lisses vasculaires et les cellules endothéliales (Ozkor & Quyyumi, 2011). La PGI<sub>2</sub> est issue de l'acide arachidonique qui est métabolisée par 2 enzymes : les cyclo-oxygénases (COX) 1 et 2. COX1 est exprimée de façon constante dans l'endothélium, les plaquettes, tandis que la COX2 est exprimée en réponse à des cytokines pro-inflammatoires. L'implication de la COX1 versus le COX2 varie en fonction du stade évolutif de la dysfonction endothéliale (Ruan et al., 2011). Donc en résumé, une diminution de la biodisponibilité du NO et du EDHF et l'augmentation de COX2 expliquerait en grande partie la dysfonction endothéliale. Une dysfonction endothéliale est un marqueur de l'initiation et de la progression de l'athérosclérose. (Figure 14).



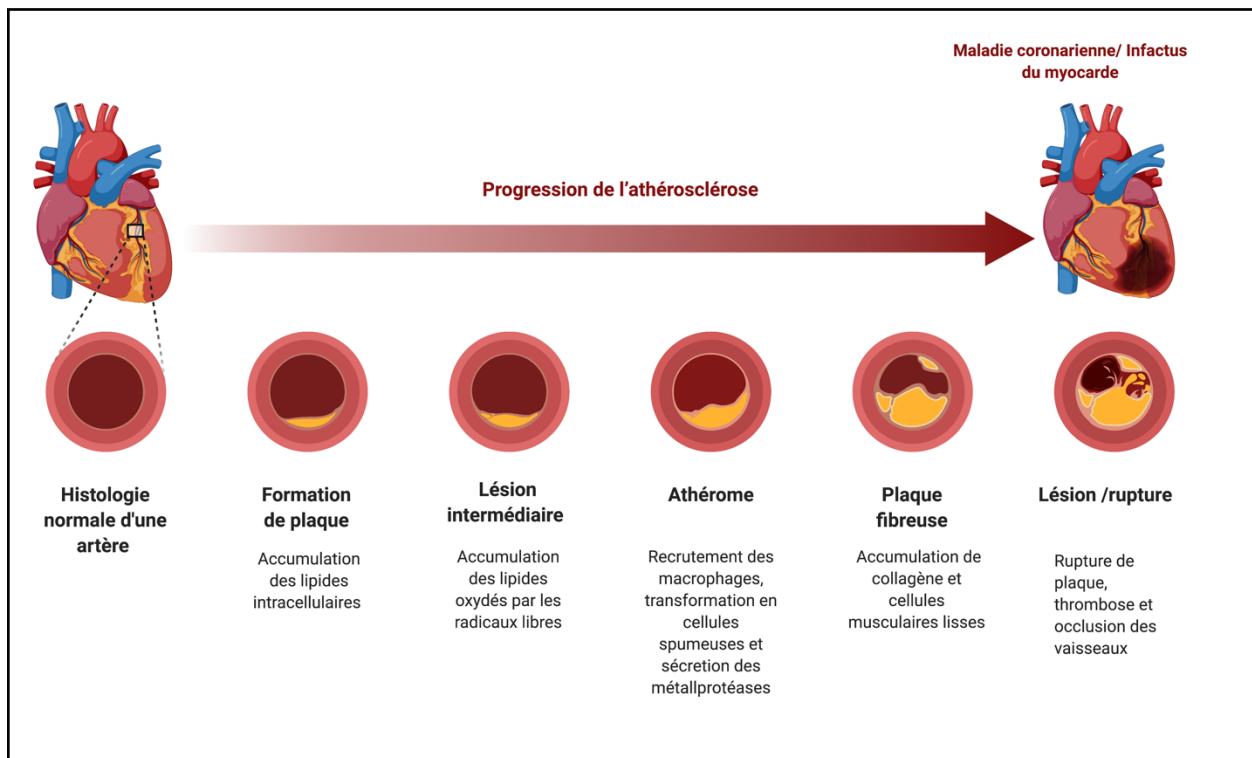
**Figure 14 : Représentation schématique des facteurs qui induisent la dysfonction endothéliale.** Les cytokines inflammatoires circulantes, telles que le facteur de nécrose tumorale  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), l'interleukine 6 (IL-6) et les espèces réactives d'oxygène (ROS), augmentent la signalisation du facteur nucléaire KB (NF $\kappa$ B) qui à son tour augmente l'expression des molécules d'adhésion (ICAM-1, VCAM-1, MCP-1) et des cytokines inflammatoires. Le NF $\kappa$ B est aussi responsable de produire l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS), qui oxyde la tétrahydrobioptérine (BH4) et l'arginine induisant un découplage de l'enzyme eNOS. Le découplage de l'enzyme eNOS diminue les agents vasodilatateurs qui a pour effet d'augmenter la production des agents vasoconstricteurs dont l'endothéline 1 (ET-1). Tous ces mécanismes prédisposent le système vasculaire à la dysfonction endothéliale (Illustration créée avec Biorender, avec permission).

### 2.2.5.2. L'athérosclérose

L'athérosclérose est un processus pathologique entraînant des maladies cardiovasculaires importantes dont la maladie coronarienne. L'athérosclérose est une maladie inflammatoire qui touche l'intima des artères. Elle est associée à un processus complexe de formation de plaque qui implique plusieurs processus tels que la dysfonction endothéliale, l'hypercholestérolémie et l'inflammation qui sont elles-mêmes à l'origine de la dysfonction endothéliale (Gimbrone & García-Cardena, 2016). Le développement de l'athérosclérose est initié par des particules résiduelles de LDL oxydés et les lipoprotéines

de basse densité. La production excessive de ROS oxyde les lipoprotéines de type LDL qui jouent un rôle majeur dans l'initiation du processus athérosclérotique (Rubbo et al., 2002). Les macrophages vont récupérer les LDL oxydées ce qui transforme les macrophages en cellules spumeuses. En réponse à la captation des LDL, l'endothélium exprime à sa surface les molécules d'adhésion (ICAM-1, VCAM-1) et la protéine MCP-1 qui conduisent à la migration des leucocytes et des monocytes dans l'intima où ils se différencient en macrophages produisant ainsi encore plus de cellules spumeuses (Ley et al., 2011). Ce processus permet aux macrophages d'augmenter la réponse inflammatoire en produisant davantage de cytokines inflammatoires qui vont stimuler à nouveau l'adhésion de nouveaux monocytes. L'accumulation de ces cellules spumeuses sur les parois artérielles entraîne la formation des stries lipidiques. En parallèle, le stress oxydatif et l'inflammation accentuent l'instabilité de la plaque en activant le plasminogène-1 (PAI-1, inhibiteur de la fibrinolyse) et la surexpression des métalloprotéinases qui dégradent la matrice extracellulaire créant ainsi un environnement pour la migration des cellules musculaires lisses vasculaires (Vacek et al., 2015). Les cellules musculaires lisses vont migrer de la média vers l'intima où ils vont former avec le collagène et les macrophages une chape fibreuse (Frostegård, 2013). Les stries lipidiques et la chape fibreuse représentent ensemble la plaque athérosclérotique. Une augmentation de taille de la plaque aboutit à une réduction de la lumière artérielle, mais sans effets cliniques immédiats (Lakatta, 2000). Généralement, les plaques sont instables et une rupture de plaque fait en sorte que les fragments lipidiques et les débris cellulaires sont libérés en circulation sanguine ce qui les expose à des agents thrombogènes entraînant la formation de thrombus. Les collagénases interstitielles qui attaquent les collagènes I et III contribuent à la rupture de la plaque. Une perte d'intégrité endothéliale et le détachement des jonctions adhérentes entre les cellules endothéliales favorisent également la formation locale de thrombus. Les cytokines pro-inflammatoires favorisent le facteur de croissance des fibroblastes, qui à son tour va déclencher l'expression du facteur de croissance transformant-bêta (TGF- $\beta$ ). Les cellules endothéliales en réponse à TGF- $\beta$

vont exprimer les métalloprotéinases qui sont capables de dégrader les constituants de la membrane basale (Libby et al., 2019). La dissociation des protéines jonctionnelles augmente la perméabilité locale de l'endothélium ce qui permet le contact des cellules avec les structures sous-jacentes de l'intima. Ceci permet de favoriser un milieu pour recruter les plaquettes. Les plaquettes qui adhèrent sous l'endothélium peuvent libérer leur contenu granulaire qui contient des cytokines pro-inflammatoires, en plus de s'agréger entre elles pour former des thrombus riches en plaquettes (Libby et al., 2019). De cette façon, une cascade pro-inflammatoire et pro-thrombotique amplifie et propage un caillot et provoque des complications cardiaques (infarctus du myocarde, maladie coronarienne) et cérébrales (accident vasculaire cérébral) (Frostegård, 2013; Libby et al., 2019) (Figure 15).



**Figure 15 : Représentation schématique du développement de l'athérosclérose.** Formation de l'athérosclérose dans l'intima par une accumulation de lipides oxydés par les radicaux libres. L'expression des molécules d'adhésion permet le recrutement de

macrophages au site de lésion qui se transforment en cellules spumeuses. La réaction inflammatoire permet la sécrétion des métalloprotéases qui dégradent la matrice extracellulaire. Les cellules musculaires lisses vont migrer de la media vers l'endothélium. La sécrétion de collagènes I et III, l'inflammation et la migration des cellules musculaires lisse vont former une plaque fibreuse. La progression de la plaque réduit la lumière du vaisseau ce qui mène à la maladie coronarienne. La rupture de plaque pourrait entraîner une thrombose et une occlusion empêchant la circulation sanguine. La diminution de l'apport sanguin au myocarde peut provoquer une ischémie myocardique aiguë ou un infarctus du myocarde. (Illustré par Biorender avec permission).

### **2.2.5.3. Mesure de la fonction vasculaire**

La technique de la dilatation produite par le flux (FMD) est utilisée pour quantifier les fonctions macro- et microvasculaires en réponse à l'augmentation de la contrainte de cisaillement se produisant lors d'une hausse du débit sanguin (Corretti et al., 2002). Cette méthode consiste à créer une ischémie de l'avant-bras en gonflant un brassard pendant 5 minutes, puis de permettre la reperfusion lorsque l'occlusion est relâchée. Au moment de la reperfusion, l'augmentation de la contrainte de cisaillement déforme la paroi endothéliale, ce qui active des mécanismes menant à la libération du NO (Corretti et al., 2002). Cette découverte a été confirmée par une étude dans laquelle la fonction endothéliale a été réduite pendant la perfusion de L-NMMA, inhibiteur compétitif et sélectif de la eNOS (Mullen et al., 2001). Lorsqu'un test de FMD a été effectué, la vasodilatation de l'artère brachiale était absente pendant la perfusion de L-NMMA. Ceci démontre que la vasodilatation qui se produit dépend du NO. La variation en pourcentage du diamètre de l'artère brachiale de la ligne de base au pic de dilatation donne un indice de la fonction endothéliale ; une plus grande vasodilatation reflète une meilleure fonction endothéliale. D'un point de vue clinique, la FMD prédit les événements cardiovasculaires chez les participants asymptomatiques et ceux qui sont atteints de maladies cardiovasculaires (Thijssen et al., 2011; Thijssen et al., 2019). Cependant une limite de cette mesure est qu'on ne peut pas savoir si l'amélioration de la fonction endothéliale lors de la mesure de FMD est due à une plus grande production de NO et/ou à une plus grande sensibilité du muscle vasculaire lisse au NO. Donc, une mesure pour différencier la réponse



endothélium-dépendante de la réponse endothélium-indépendante lors de l'évaluation de la fonction endothéliale est l'utilisation de la nitroglycérine (GTN) (Maruhashi et al., 2013). La GTN est considérée comme un vasodilatateur indépendant de l'endothélium, puisqu'elle agit directement au niveau du muscle vasculaire lisse, sans agir au niveau de l'endothélium. Quant à la fonction **microvasculaire**, elle peut être estimée en mesurant l'amplitude de l'hyperémie réactive en réponse à la manœuvre d'ischémie et de reperfusion de l'avant-bras. La fonction microvasculaire est estimée par la conductance pic et l'aire sous la courbe de la conductance de l'avant-bras à la suite du relâchement de l'occlusion. Si les valeurs de la conductance pic et de l'aire sous la courbe de la conductance sont élevées, cela reflète une plus grande dilatation des vaisseaux de l'avant-bras et de la main, indiquant ainsi une meilleure fonction microvasculaire (Limberg et al., 2020).

#### **2.2.5.3.1. L'effet du diabète de type 2 et de la maladie coronarienne sur la FMD et la fonction microvasculaire.**

Une détérioration progressive de la FMD a été rapportée dans le diabète de type 2 et la maladie coronarienne en raison du vieillissement, du stress oxydatif et de l'inflammation. Une étude a évalué la fonction endothéliale par la technique de FMD et la vasodilatation indépendante de l'endothélium (par GTN) chez 3 groupes de personnes ayant différents niveaux de glycémie à jeun ; les personnes en santé (5.42 mmol/L), les personnes intolérantes au glucose (6.05 mmol/L) et les personnes ayant le diabète de type 2 (7.61 mmol/L) (Henry et al., 2004). Après ajustement pour l'âge, le sexe, le diamètre de base, et l'hyperémie réactive maximale, la FMD était plus basse pour le groupe ayant le diabète de type 2 ( $2.96 \pm 3.66$  %) comparativement au groupe intolérant au glucose ( $4.23 \pm 3.99$  %) et le groupe de personnes en santé ( $4.47 \pm 3.78$  %). A l'inverse, il n'y avait pas de différences entre les groupes pour la dilatation indépendante de l'endothélium. De plus, une étude récemment publiée a évalué la FMD en fonction de la concentration de glucose à jeun chez 7265 personnes d'âge moyen ( $51 \pm 10$  ans). Les participants étaient

divisés en 4 groupes en fonction de la glycémie à jeun (<5.5 mmol/L, 5.6-6 mmol/L, 6.1-6.9 mmol/L, ≥7 mmol/L). Cette étude a démontré que la FMD était inversement corrélée avec la glycémie à jeun. La FMD était plus faible chez le groupe ayant une glycémie entre 5.6 à plus de 7 mmol/L comparativement au groupe ayant une glycémie inférieure à 5.5 mmol/L (Yamaji et al., 2020). Pour la maladie coronarienne, une étude a évalué la fonction endothéliale chez 35 personnes environ 1 an après un événement cardiaque (infarctus du myocarde, angor instable et accident vasculaire cérébral), comparativement à un groupe témoin en santé. La FMD était significativement plus faible chez les patients ayant eu un événement cardiaque ( $4.4 \pm 2.8 \%$ ) par rapport au groupe témoin ( $7.0 \pm 4.9 \%$ ). À l'inverse, la vasodilatation indépendante de l'endothélium (par GTN) était similaire entre les deux groupes (Gokce et al., 2003). Dans une autre étude, 152 patients ( $56 \pm 6$  ans) ont été suivis pendant 34 mois. Vingt-deux personnes ont développé un événement cardiaque (infarctus du myocarde, angioplastie coronarienne et événements vasculaires périphériques). Une FMD plus basse a été observée chez les personnes qui ont développé un événement cardiaque comparativement aux personnes qui n'ont pas développé un événement cardiaque (Chan et al., 2003).

Au niveau de la fonction microvasculaire, certaines études ont démontré une hyperémie réactive plus basse en présence de diabète de type 2 et de maladies cardiovasculaires. D'ailleurs, une hyperémie plus basse est associée à un risque accru de décès ou d'hospitalisation cardiaque après contrôle des facteurs de risque traditionnels (Paine et al., 2016). Dans le contexte du diabète de type 2, une méta-analyse a observé une association entre le diabète de type 2 et la dysfonction microvasculaire. L'hyperémie réactive était plus basse chez des personnes présentant un diabète de type 2 comparativement à un groupe de personne en santé (Fuchs et al., 2017). Dans le contexte des maladies cardiovasculaires, une étude prospective a suivi pendant environ 2 ans (médian de suivi 309 jours) 267 personnes ( $64 \pm 11$  ans) ayant subi une opération chirurgicale vasculaire (endartériectomie carotidienne, pontages périphériques,

réparation d'un anévrisme de l'aorte abdominale, amputation d'un membre) ou une autre intervention chirurgicale (endartériectomie fémorale ou débridement de la plaie). Un événement cardiaque est survenu chez 50 patients (19 %) au cours de la période de suivi. Les événements survenus incluaient un décès cardiaque, un infarctus du myocarde, un angor instable, une insuffisance cardiaque et un accident vasculaire cérébrale non hémorragique. Chez les personnes ayant développé un événement cardiaque, le débit sanguin de l'avant-bras, la contrainte de cisaillement et la dilatation produite par le flux étaient plus basses que les personnes qui n'ont pas développé un événement cardiaque (Huang et al., 2007)

En résumé, la maladie coronarienne est une maladie attribuable à la progression de la plaque d'athérosclérose. Elle est généralement associée à l'inflammation et la dysfonction endothéliale qui sont favorisées par différents facteurs de risques modifiables ou non modifiables. Les principaux facteurs de risque sont le vieillissement, l'obésité et le diabète de type 2. Les traitements médicamenteux et le changement des habitudes de vie permettent de limiter ces facteurs de risque. Il demeure important d'identifier de nouvelles interventions afin d'améliorer la santé cardiovasculaire.

## **2.3. La chaleur thérapeutique**

### **2.3.1. Régulation de la température corporelle**

La thermorégulation est l'ensemble des mécanismes physiologiques permettant de maintenir la température centrale du corps constante entre 35.6 et 37.8 °C (Yousef et al., 2021). La thermorégulation est vitale pour la survie de toute espèce. En condition physiologique, la température centrale du corps (organes internes) est plus élevée que la température cutanée. Cependant, elle s'écarte des valeurs normales lors de l'exercice, de maladies et lors d'une exposition à des environnements chauds. Une déviation trop

importante de la température interne comme l'hyperthermie ou l'hypothermie peut entraîner des perturbations de l'homéostasie du corps (Bledsoe et al., 2003). La surveillance de la température centrale est un élément important puisqu'une fluctuation de la température des tissus peut affecter les fonctions neuronales contrôlant toutes les fonctions physiologiques du corps (Forster & Ferguson, 1952; Lomax et al., 1964). L'homéostasie du corps est maintenue grâce à un équilibre entre la production et la perte de chaleur. Le système thermorégulateur comprend trois composantes : **1)** la partie afférente sensorielle, **2)** la partie d'intégration et **3)** la partie efférente.

### 1) Voie afférente cutanée et centrale

Les thermorécepteurs périphériques et centraux permettent de détecter les changements de la température. Les thermorécepteurs périphériques sensibles au chaud sont situés dans le derme de la peau, alors que les thermorécepteurs périphériques sensibles au froid se situent dans l'épiderme. Les thermorécepteurs centraux se situent dans les zones profondes de l'organisme par exemple au niveau des gros troncs veineux, dans la paroi des organes intra-abdominaux, au niveau de l'hypothalamus antérieur et dans la moelle épinière. Les neurones thermosensoriels contiennent un axone qui se divise en deux branches, une branche présente au niveau des tissus périphériques tels que la peau, les muqueuses et les organes internes, où ils rassemblent des informations dépendamment des stimuli environnementaux, et l'autre branche qui transmet les informations aux neurones du second ordre de la corne dorsale ou au noyau sensoriel du cerveau. Les neurones sensoriels primaires qui innervent la tête et le visage (la bouche, le nez et les yeux) sont regroupés dans le ganglion trigéminal et les neurones sensoriels qui innervent le reste du corps qui ont leur corps cellulaire dans les ganglions de la racine dorsale, situés dans la colonne vertébrale en dehors de la moelle épinière (Morrison & Nakamura, 2019; Xiao & Xu, 2021). Les neurones sensoriels primaires de la peau impliqués dans la thermosensation comprennent à la fois des fibres C non myélinisées et des fibres A $\delta$  finement myélinisées. Les fibres thermosensorielles perçoivent différentes

gammes de températures. Le seuil de sensation pour le froid des fibres sensibles aux températures inoffensives est entre 15 à 33°C et le seuil pour la chaleur est entre 33 à 45°C. Le seuil nocif des fibres sensibles au froid est <15°C et >45°C pour la chaleur (Xiao & Xu, 2021). Les corps cellulaires de ces neurones sont situés dans les ganglions de la racine dorsale où les informations thermiques sont codées sous forme de potentiels d'action. Le potentiel d'action se propage dans les couches I et II (pour les fibres C) ou les couches I et V (pour les fibres A $\delta$ ) de la corne dorsale. Ensuite, les informations thermosensorielles sont transmises via les neurones parabrachiaux latéraux vers la zone préoptique antérieure de l'hypothalamus où les processus de thermorégulation sont intégrés (Kandel et al., 2013). La sensation périphérique du stress thermique est probablement transmise par l'activation des canaux *transient receptor potential vanilloide* (TRPV) de la famille des canaux TRP (Filingeri, 2016). Plusieurs familles de canaux TRPV ont été détectées chez les mammifères. Le canal TRPV1 qui détecte les températures supérieures à 37°C est le canal le plus abondant (Peier et al., 2002). D'autres canaux TRPV réagissent aux variations de température, mais à des seuils de température plus bas. Par exemple, TRPV2 détecte les températures au-dessus de 52°C, TRPV3 entre 32–39°C, TRPV4 entre 26 et 34°C et TRPV8 <27°C. Le canal TRPV1 est exprimé dans les kératinocytes de l'épiderme cutané (Peier et al., 2002) et contient des sites potentiels de phosphorylation pour de nombreuses sérine/thréonine kinases, telles que la protéine kinase C, la protéine kinase A et la protéine kinase II, dépendante du calcium/calmoduline qui provoque la sensibilisation du canal. De plus, le facteur de croissance nerveuse (NGF) sensible à la chaleur nocive est aussi un stimulus de la sensibilisation du TRPV1 d'une manière indépendante du Ca<sup>2+</sup> (Bonnington & McNaughton, 2003). Le NGF active la tropomyosine récepteur kinase A (TrkA) qui à son tour active la phospholipase C (PLC) pour pouvoir hydrolyser le phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate (PIP2) afin de sensibiliser le canal TRPV1. L'activation de TRPV1 diffuse les informations thermiques aux nerfs sensoriels (A $\delta$  et C) du ganglion trigéminal et des ganglions de la racine dorsale qui expriment le TRPV1 à deux modalités, la sensation de température et la douleur

(Mandadi et al., 2009). De plus, le canal anoctamine 1 (ANO1), un canal chlorure activé par le calcium est co-exprimé avec le TRPV1 à une température nocive chaude (Huang et al., 2012). Les membres de la famille des canaux K<sup>+</sup> (TREK1 et TRAAK) ont une sensibilité à la chaleur entre 20 à 40°C et sont exprimés dans les neurones sensoriels y compris de la racine dorsale et du ganglion trigéminal (Kang et al., 2005).

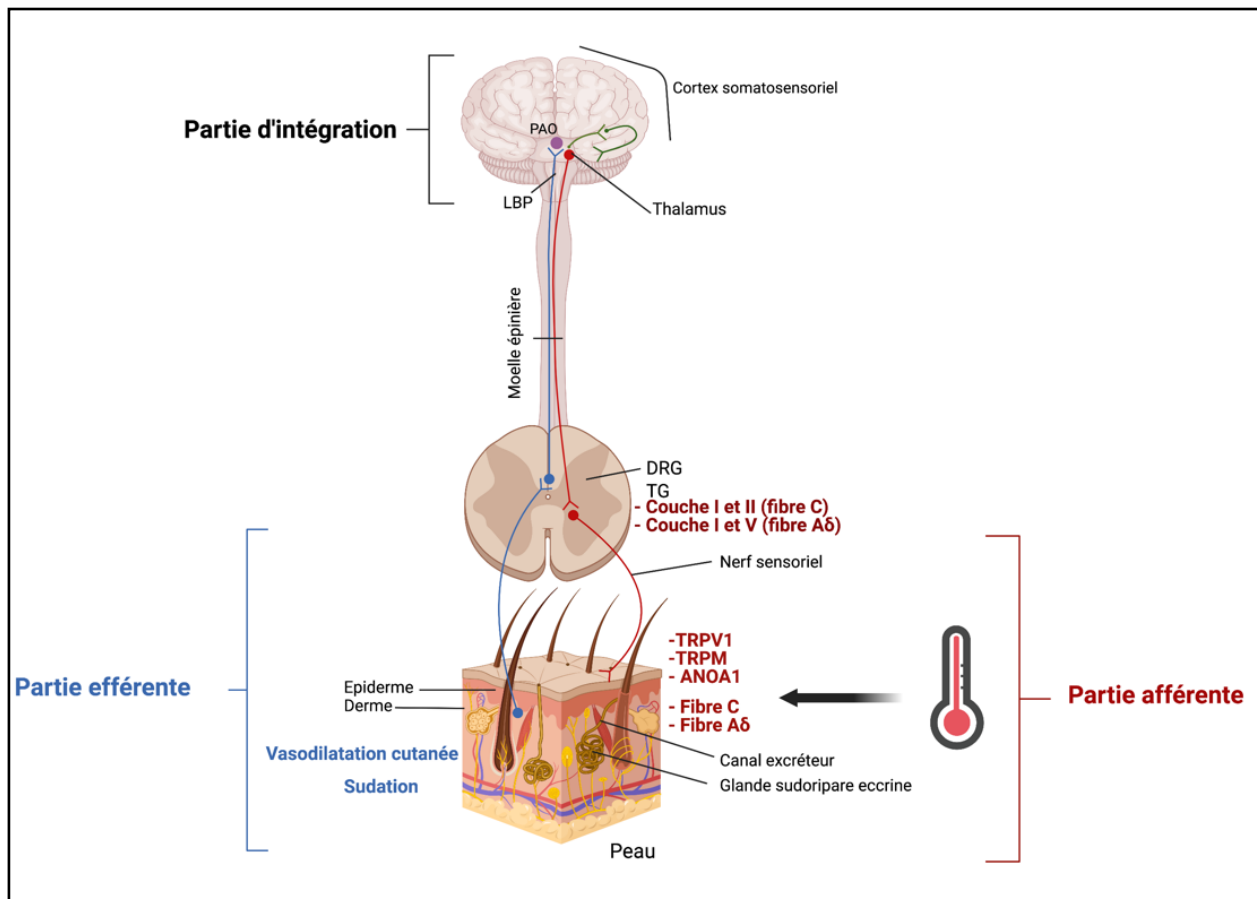
## 2) La partie d'intégration

Les informations thermosensorielles contribuent à l'activation des neurones de la corne dorsale de la moelle épinière (DH) qui répondent à la chaleur et au froid. Le DH transfère le signal vers le noyau parabrachial latéral (LPB) (Madden & Morrison, 2019). Les neurones du LPB (LPB latéral externe (froid) et LPB dorsal (chaud)) envoient des projections glutamatergiques (neurotransmetteur excitateur du système nerveux central) à la zone pré-optique (POA) (Geerling et al., 2016). L'intégration des informations thermosensorielles se produit dans la zone POA du pôle dorsal de l'hypothalamus afin de générer une réponse effectrice vers les effecteurs périphériques. Les effecteurs physiologiques importants pour la thermorégulation sont le contrôle du flux sanguin cutané, le frisson et la sudation (Madden & Morrison, 2019) (Figure 16). Le cerveau et la moelle épinière sont sensibles aux variations de température en plus de leur rôle dans l'intégration des températures périphériques. Le cerveau représente une structure sensible aux variations de température (température maintenue ~37°C). La moelle épinière déclenche aussi des réponses thermorégulatrices au changement de température centrale et transmet les informations au cerveau (Brock & McAllen, 2016). La zone POA de l'hypothalamus provoque une réponse de défense contre la chaleur.

## 3) Voie efférente cutanée et centrale

Les informations reçues par le POA sont transmises aux effecteurs par une voie descendante qui quitte le cerveau via la moelle épinière. Les neurones de la médulla activent le système nerveux sympathique périphérique pour induire une réponse

effectrice. La réponse effectrice résultant de la chaleur est la sudation et la vasodilatation cutanée. La voie neuronale du POA vers la glande sudoripare est la suivante : les signaux efférents de l'hypothalamus pré-optique voyagent via le pont dorsal et le noyau raphé médullaire vers la moelle épinière. Dans la moelle épinière, les neurones émergent de la corne latérale, traversent le rameau communicant blanc puis synapsent dans les ganglions sympathiques. Les fibres postganglionnaires sympathiques non myélinisées traversent le rameau communicant gris, se combinent avec les nerfs périphériques et se rendent aux glandes sudoripares et aux vaisseaux sanguins de la peau pour produire la sudation et la vasodilatation en libérant de l'acétylcholine (Uno, 1977).



**Figure 16 : Représentation schématique de la régulation de température interne lors de l'exposition à la chaleur. L'augmentation de la température ambiante est détectée**

par les thermorécepteurs qui comprennent les canaux ioniques de la famille de *transient receptor potential* (TRPV1, TRPM), les canaux anoctamine 1 (ANO1) et les neurones thermosensoriels. Les neurones thermosensoriels primaires cutanés comprennent à la fois des fibres C non myélinisées et des fibres A $\delta$  finement myélinisées. Les informations thermosensorielles sont transmises via les neurones parabrachiaux latéraux (LPB) vers la zone pré-optique antérieure (POA) de l'hypothalamus où les processus de thermorégulation sont lancés. Les neurones médullaires activent le système nerveux sympathique périphérique pour induire une réponse thermoeffectrice, soit la vasodilatation cutanée et la sudation (Illustration créée avec Biorender).

La production de sueur est réalisée par des glandes spécialisées situées dans la couche dermique de la peau appelée **les glandes sudoripares**. Il existe 3 types de glandes sudoripares : apocrine, eccrine et apoéccrine. Les glandes apocrines sont associées à des follicules pileux (aisselle) et participent très peu à la thermorégulation. Les glandes eccrines associées à des follicules non pileux (surface de la peau) agissent comme thermoeffecteur, traverse l'épiderme et débouchent sur un pore directement à la surface cutanée (Bovell, 2015).

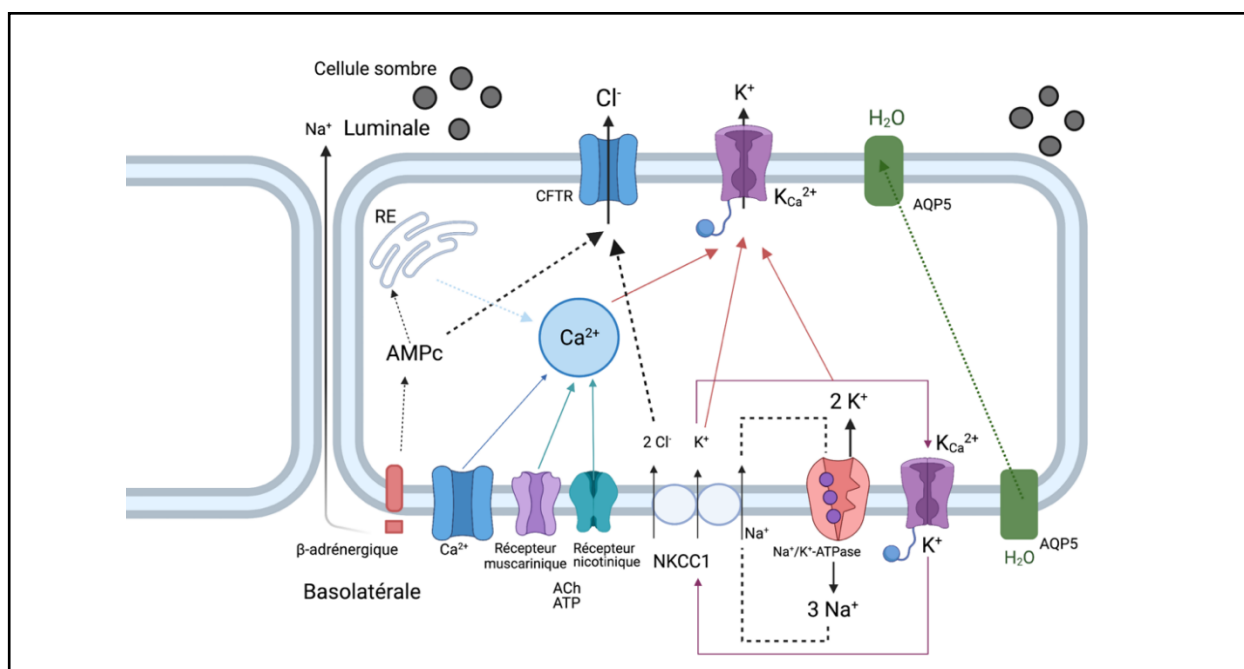
La glande eccrine est constituée de 3 parties : **1)** le glomérule, tubule formé d'une seule couche d'épithélium connecté à des fibres nerveuses et des capillaires à la surface de la peau. Le glomérule est constitué de 2 types de cellules ; sombres et claires ; **2)** les cellules claires participent au transport de l'eau et des ions. Les cellules sombres contenant des grains de sécrétion glycoprotéique, assurent l'évacuation de la sueur ; **3)** le canal excréteur qui traverse le derme et s'ouvre par un pore à la surface de la peau. Les glandes apoéccrines ont les propriétés mixtes des glandes apocrines et eccrines (Gagnon & Crandall, 2018). Les nerfs sympathiques distribués aux glandes sudoripares sont constitués de plusieurs terminaux cholinergiques et de quelques terminaux adrénergiques (Uno, 1977). L'acétylcholine se lie principalement à son récepteur muscarinique (M3) présent au niveau des glandes sudoripares de la peau (Gagnon & Crandall, 2018). La contribution des récepteurs adrénergiques à la sudation est mineure par rapport à l'effet cholinergique. Les neurotransmetteurs cholinergiques et  $\alpha$ -



adrénergiques entraînent une augmentation du calcium intracellulaire, tandis que l'activation des récepteurs  $\beta$ -adrénergique génère des augmentations de l'AMPc. L'AMPc diffuse ensuite à l'intérieur de la cellule et agit en tant que messenger qui facilite l'ouverture des canaux ioniques. La stimulation cholinergique ou adrénergique, couplés aux protéines G, activent la PLC liée à la membrane, qui déclenche une série de réactions pour créer l'inositol-1,4,5 trisphosphate d'inositol (IP3). L'IP3 diffuse dans le cytosol et se fixe aux récepteurs (InsP3 R2) sur la membrane du réticulum endoplasmique, permettant au calcium stocké d'être libéré dans le cytoplasme cellulaire (Bovell, 2015).

La stimulation cholinergique et  $\beta$ -adrénergique stimule aussi les canaux ioniques présents au niveau de la membrane luminale et basolatérale des cellules claires du glomérule. L'attachement du calcium au canal  $\text{Cl}^-$  permet de diffuser le  $\text{Cl}^-$  dans la lumière. Le calcium induit l'ouverture du canal potassique ( $\text{K}^+$ ), situé à la fois sur la membrane luminale et basolatérale, ce qui hyperpolarise la cellule et permet une sécrétion soutenue de la sudation. Le calcium agit aussi sur la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase qui fait sortir 3  $\text{Na}^+$  à l'extérieur de la cellule contre 2  $\text{K}^+$  rentrant (Bovell, 2015). Un efflux de potassium induit l'activation du co-transporteur chlorure de sodium-potassium (NKCC1). Le mouvement de sodium et de chlorure par le co-transporteur NKCC1 et d'eau par l'aquaporine 5 (AQP5) produit le fluide primaire. Le fluide primaire passe à travers la glande jusqu'à la surface de la peau où il peut être libéré sous forme de sudation (Low, 2004) (Figure 17).

Il a également été observé qu'un certain nombre de neurotransmetteurs et d'hormones influencent la fonction des glandes sudoripares. Par exemple, l'aldostérone, le peptide intestinal vasoactif, les purines et les œstrogènes (Freedman & Blacker, 2002; Ronconi et al., 2005).

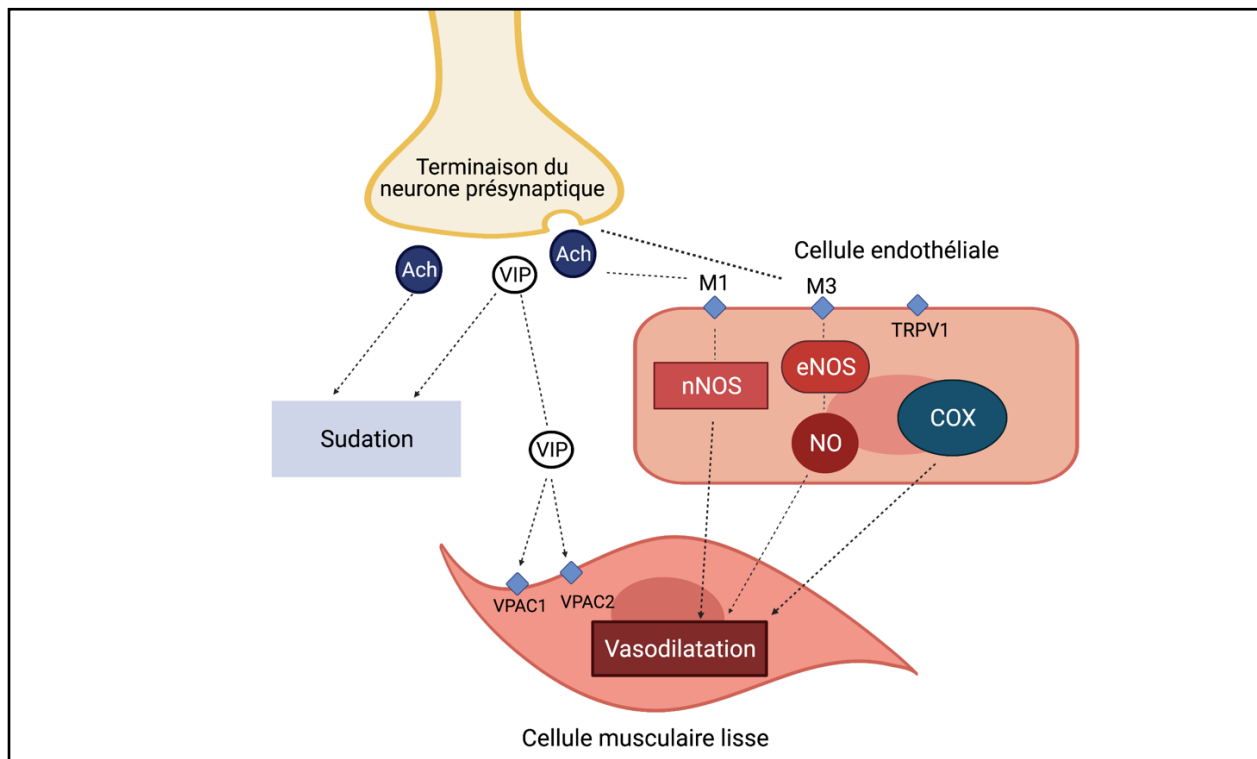


**Figure 17 : Représentation schématique des mécanismes impliqués dans la formation de la sueur à partir d'une cellule claire.** Le glomérule se compose d'une seule couche de cellules sombres et claires entrecoupées. La stimulation cholinergique et  $\beta$ -adrénergique augmente la sécrétion du calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) qui provoque l'ouverture des canaux potassiques ( $\text{K}^+$ ), clore ( $\text{Cl}^-$ ),  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase et NKCC1 présents au niveau luminale et basolatérale. Dans les cellules claires, la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase située sur la membrane basolatérale déplace 3 ions  $\text{Na}^+$  pour 2 ions  $\text{K}^+$  vers la cellule. Cela crée un gradient pour que le  $\text{Na}^+$  pénètre dans les cellules via NKCC1. La présence de  $\text{NaCl}$  dans la lumière génère un gradient osmotique pour que l'eau ( $\text{H}_2\text{O}$ ) passe à travers le canal aquaporine 5 (AQP5) dans la lumière créant la principale solution de sudation isotonique au plasma. CFTR : Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator, RE : réticulum endoplasmique, ACh : acétylcholine (Illustration créée avec Biorender, inspiré de (Bovell, 2015)).

Le deuxième mécanisme physiologique de perte de chaleur lors d'un stress thermique est la **vasodilatation cutanée**. La peau est le plus grand organe du corps humain et le principal organe impliqué dans la perte de chaleur. La peau est composée de fibres sympathiques noradrénergiques vasoconstrictrices, ainsi que de fibres sympathiques cholinergiques vasodilatatrices. La vasoconstriction est induite par la liaison de la noradrénaline aux récepteurs  $\alpha_1$  et  $\alpha_2$  adrénériques, se produisant surtout lors d'un stress hypothermique (Kellogg et al., 1999). La vasodilatation est produite par l'activité cholinergique dès que le seuil ( $\sim 37^\circ\text{C}$ ) de température corporelle est atteint.

L'ACh est libérée par la fibre post-ganglionnaire du système nerveux sympathique. Ensuite, l'ACh se lie aux récepteurs muscariniques (type M3) et induit principalement la production de NO et de prostacycline. Ces dernières permettent la relaxation des cellules musculaires lisses et la dilatation des vaisseaux (Kellogg et al., 1999). Wilkins *et al.* ont évalué si le NO a un rôle direct dans la vasodilatation cutanée. Cette hypothèse a été vérifiée en injectant le bloqueur de la production endogène de NO (L-NAME). Les résultats de cette étude ont montré que l'inhibition de la synthèse de la eNOS a diminué la vasodilatation cutanée et l'administration exogène de NO l'a restauré. Donc, cette étude a confirmé que le NO est un effecteur direct de la vasodilatation cutanée et non pas un facteur permissif (Wilkins et al., 2003). Une autre étude suggère que la NOS neuronale (nNOS), contribue aussi à la production de NO au niveau cutané pendant l'exposition à la chaleur. L'ACh se lie aux récepteurs muscariniques (type M1) des cellules endothéliales cutanées pour induire une vasodilatation. L'administration d'un inhibiteur de nNOS (7-nitroindazole) par microdialyse a diminué le flux sanguin cutané pendant une exposition du corps entier à la chaleur, mais n'a eu aucun effet sur l'augmentation du flux sanguin cutané induite par un chauffage local de la peau (Kellogg et al., 2008). Ce résultat clarifie que le nNOS est exprimé de manière constitutive pour contrôler les réponses vasomotrices lors de l'exposition à la chaleur. Le polypeptide intestinal vasoactif (VIP), une hormone vasoactive co-exprimée avec l'ACh, exerce un rôle majeur en tant qu'effecteur à la fois pour la sudation et la vasodilatation cutanée. Le VIP se lie à son récepteur (VPAC1 et VPAC2) au niveau du muscle lisse et augmente la vasodilatation cutanée. Une étude a démontré que l'inhibition de VIP (VIP10–28 par microdialyse) réduit la vasodilatation cutanée pendant un stress thermique (Wong et al., 2005). McCord *et al.* ont identifié que les prostaglandines sont aussi impliquées dans la vasodilatation cutanée. Les participants ont été exposés à la chaleur par l'entremise d'une combinaison chauffante pendant que la voie COX a été inhibée en utilisant du kétorolac administré par microdialyse. L'inhibition de la COX a diminué la vasodilatation de 16% chez des jeunes adultes en santé, démontrant ainsi que les prostaglandines contribuent à la vasodilatation

cutanée (McCord et al., 2006). De plus, l'inhibition de la production endogène de NO par combinaison de L-NAME/ kétorolac a diminué davantage la vasodilatation cutanée par rapport à la kétorolac seul ou le L-NAME seul. Cela suggère que les voies NO et COX contribuent à une partie de la vasodilatation active indépendamment l'une de l'autre (McCord et al., 2006). Il a aussi été suggéré que les canaux TRPV1, principalement présents sur les neurones et moins présents sur les cellules endothéliales de la peau, participent à la vasodilatation cutanée. L'inhibition des canaux TRPV1 par la capsazépine (administrée via microdialyse) a réduit la vasodilatation cutanée de 25%. L'administration de L-NAME avec la capsazépine n'a montré aucun changement entre le blocage de la eNOS et le TRPV1, suggérant que l'activation du canal TRPV1 peut contribuer à la composante de la vasodilatation cutanée qui est activée par le NO (Wong, 2013). Tous ces facteurs permettent une vasodilatation active de la peau (Figure 18).



**Figure 18 : Représentation schématique des mécanismes impliqués dans la vasodilatation cutanée.** La vasodilatation est produite par une activité cholinergique.

L'acétylcholine (Ach) est libérée par la terminaison nerveuse cholinergique. L'hormone polypeptidique intestinale vasoactive (VIP) est généralement co-libérée avec l'acétylcholine. L'acétylcholine, une fois libérée, se lie à son récepteur (M1), ce qui stimule la NOS neuronale (nNOS) contribuant à la production de NO. Aussi, l'acétylcholine se lie à son récepteur (M3), au niveau de la cellule endothéliale, et stimule la NOS endothéliale (eNOS). La eNOS génère le NO dans l'endothélium ce qui provoque une partie de la dilatation cutanée. Le VIP se lie à son récepteur au niveau du muscle lisse pour induire une vasodilatation. Les canaux *transient receptor potential vanilloide 1* (TRVP1) et la cyclooxygénase (COX) sont aussi impliqués dans la vasodilatation cutanée (Illustration créée avec Biorender, inspiré de (Francisco & Minson, 2018)).

La sudation et la vasodilatation cutanée permettent de favoriser les échanges de chaleur entre le corps et l'environnement (González-Alonso et al., 2008). Les échanges de chaleur se produisent par quatre mécanismes : l'évaporation, la convection, la conduction et la radiation. Le transfert de chaleur entre la peau et l'environnement se fait principalement par radiation (des rayons infrarouges), représentant environ 60% des pertes de chaleur qui dépend de la température à leur surface (Lindsey, 2020). Ce transfert se fait en allant de la surface la plus chaude à la moins chaude. L'évaporation est le deuxième principal mécanisme de perte de chaleur qui représente environ 22% des pertes de chaleur au repos. L'évaporation permet de dissiper la chaleur lorsque la température ambiante est plus chaude que la peau ou lorsque la convection et la radiation sont insuffisantes (Lindsey, 2020). La perte de chaleur par évaporation est principalement affectée par la distribution des glandes sudoripares. Enfin, la conduction et la convection contribuent à environ 15% des pertes de chaleur. La conduction est la perte de chaleur sous forme d'énergie cinétique des molécules de la peau vers l'environnement. Par exemple, pour une même température, l'eau est un meilleur conducteur que l'air, ce qui permet que le gain ou la perte de chaleur est plus efficace dans l'eau que dans l'air (Widmaier, 2008). La convection est le processus par lequel la conduction est facilitée par les mouvements d'air ou d'eau (Widmaier, 2008). Ces modes de transfert thermique entre les organes internes et la peau ou entre la peau et l'environnement dépendent d'un gradient de température ou d'humidité absolue. Le gradient entre la température interne

et celle de la peau dicte le transfert de chaleur vers la peau, tandis que le gradient de température entre la peau et le milieu ambiant dicte les transferts de chaleur avec l'environnement (Widmaier, 2008). Lorsque la température de la peau dépasse la température de l'environnement, la chaleur est transmise de la peau vers l'environnement. À l'inverse, lorsque la température de l'environnement dépasse la température de la peau, le transfert de chaleur se fait de l'environnement vers la peau et ensuite de la peau vers l'intérieur du corps lorsque la température du corps est plus basse que la température de la peau. Un deuxième facteur de la perte de chaleur est l'évaporation de la sueur sécrétée à la surface de la peau lors d'une exposition à un environnement chaud. Dans un environnement humide et chaud, une partie de la sueur sécrétée ne s'évapore pas de la peau et reste ainsi sur la surface de la peau ou tombe vers le sol. L'efficacité de la transpiration est déterminée par  $\omega_{req}$  soit la « moiteur de la peau » qui est déterminée par l'évaporation requise divisée par l'évaporation maximale permise par l'environnement. Il a été rapporté que l'efficacité de la transpiration diminue lorsque  $\omega_{req}$  dépasse des valeurs aussi basses que  $\sim 0,50$  (Candas et al., 1979). Afin de garantir qu'un  $\omega_{req}$  est suffisamment bas pour avoir une évaporation complète de la sueur, une vitesse d'air associée à une faible humidité ambiante et une faible résistance à l'évaporation des vêtements sont nécessaires (Reardon et al., 2006).

### **2.3.2. Chaleur et fonction cardiovasculaire**

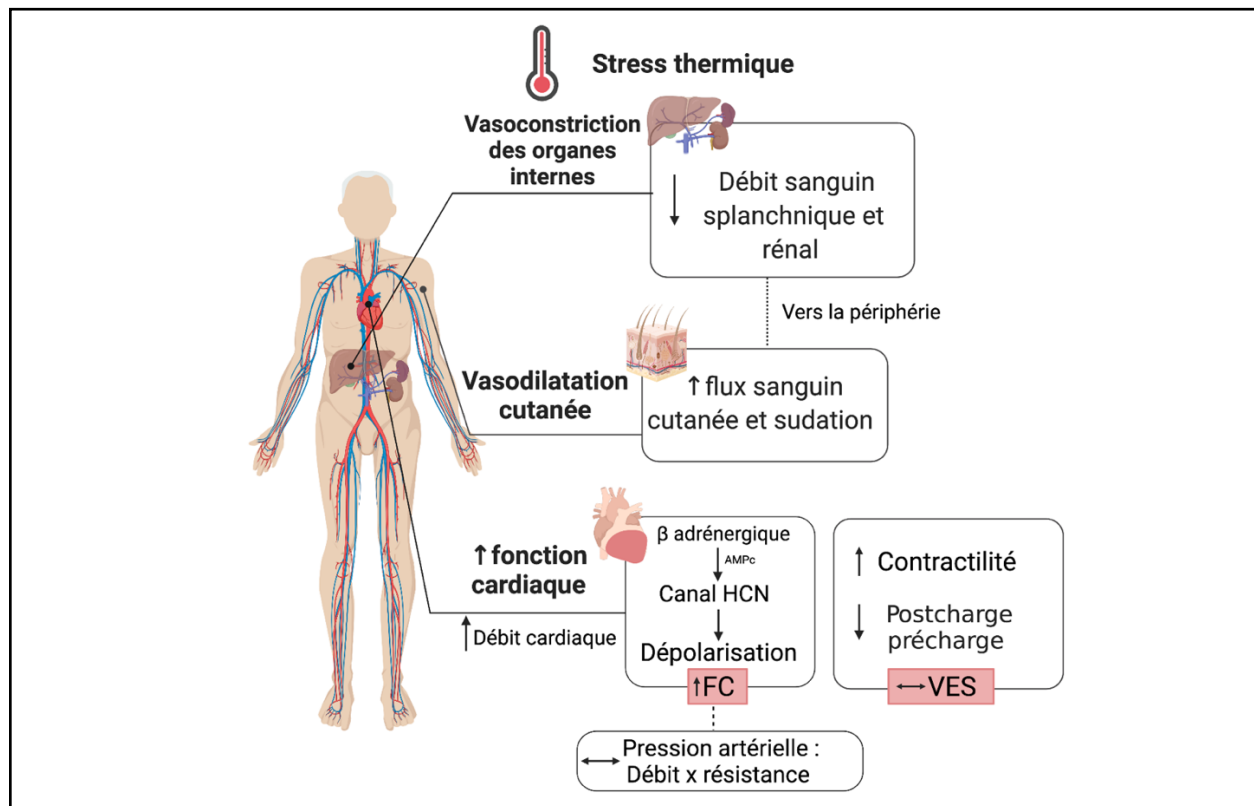
Lorsque la température centrale augmente, la sudation et la demande du flux sanguin vers la peau peuvent entraîner des ajustements cardiovasculaires nécessaires à une régulation adéquate de la température. Le système cardiovasculaire est bien reconnu comme étant un contributeur important face à un stress thermique (González-Alonso et al., 2008).

### **2.3.2.1. Débit cardiaque, résistance, fréquence cardiaque**

La vasoconstriction des lits vasculaires splanchnique (le système vasculaire du gros intestin et de l'intestin grêle, du pancréas, de la rate, de l'estomac et du foie) et rénal accompagne l'exposition à la chaleur. La vasoconstriction aboutit à une diminution du débit sanguin splanchnique et rénal de 20% à 60% (en moyenne ~ 40% de réduction) afin de redistribuer le flux sanguin à la surface cutanée pour faciliter la perte de chaleur avec l'environnement (Minson et al., 1999; Rowell et al., 1971). Les mécanismes par lesquels le débit splanchnique diminue est la combinaison d'une baisse de pression de perfusion combinée à une vasoconstriction à stimulation adrénergique (Rowell et al., 1969). Malgré la vasoconstriction splanchnique et rénale, la résistance périphérique diminue lors de l'exposition à la chaleur en raison de la vasodilatation cutanée. Pour cette raison, le débit cardiaque doit augmenter pour maintenir la pression. Si la diminution de la résistance périphérique (due à la vasodilatation cutanée) n'est pas compensée par une augmentation du débit cardiaque, une baisse de la pression artérielle est observée pendant l'exposition à la chaleur (Rowell et al., 1969). Lors d'une exposition passive à la chaleur, le débit cardiaque double (5 L/min jusqu'à ~ 12,5 L/min) pour perfuser totalement le sang à la surface cutanée (Johnson et al., 1986). Le moteur de l'augmentation observée du débit cardiaque pendant la chaleur est la fréquence cardiaque. Chez l'humain, la fréquence cardiaque augmente de ~7 bpm pour chaque degré d'augmentation de la température interne (Jose et al., 1970). L'augmentation de la fréquence cardiaque est due à l'effet direct de la température sur le nœud sinusal et de l'activité du système nerveux autonome sur le nœud sinusal (Crandall & González-Alonso, 2010). Un deuxième facteur qui pourrait théoriquement affecter le débit cardiaque est le volume d'éjection systolique (VES). Le VES dépend de la pré-charge (la tension créée par l'étirement des fibres cardiaques pendant la phase terminale diastolique du cycle cardiaque), de la contractilité (force de contraction de chaque myocyte ventriculaire) et de la post-charge (pression s'opposant à l'ouverture des valves aortique et pulmonaire) (Widmaier, 2008). Des études *in vivo* ont démontré que la pré-charge peut être déterminée par plusieurs paramètres :

**1)** la pression auriculaire droite / la pression veineuse centrale, **2)** la pression capillaire pulmonaire, **3)** le volume télédiastolique du ventricule gauche et le volume sanguin central (Patterson et al., 1914; Patterson & Starling, 1914). Wilson *et al.* ont observé une diminution de la pression capillaire pulmonaire d'environ 3 mmHg lors du chauffage du corps entier (combinaison chauffante pour augmenter d'environ 1.0°C la température interne) qui est l'indice indirect de la pression de remplissage ventriculaire gauche (Wilson et al., 2009). Une deuxième étude par le même groupe a démontré que l'exposition à la chaleur peut diminuer la pression veineuse centrale, indice de la pression de remplissage ventriculaire gauche (Wilson et al., 2007). L'imagerie cardiaque a aussi démontré que le volume sanguin central diminue de 17% chez des jeunes adultes en santé (âge moyen 28 ans) lors de l'exposition à la chaleur. Le protocole consistait à augmenter la température interne de  $\geq 1.0^{\circ}\text{C}$  en utilisant une combinaison chauffante (Crandall et al., 2008). Les raisons de la diminution de la pré-charge lors de l'exposition à la chaleur sont multifactorielles. Une des raisons peut être la vasodilatation cutanée qui n'est pas contrecarrée par des diminutions équivalentes des volumes vasculaires ailleurs dans le corps. Une deuxième raison est l'augmentation du volume veineux et l'augmentation de la sudation qui peuvent réduire le volume plasmatique et le liquide interstitiel (Sawka & Montain, 2000). Le deuxième facteur déterminant de la VES est la post-charge. Lors de l'exposition à la chaleur une diminution de la post-charge cardiaque est observée chez l'homme. La résistance vasculaire systémique qui est le marqueur indirect de la post-charge diminue à la chaleur (Crandall & González-Alonso, 2010) (Figure 19). Le troisième facteur affectant le VES est la contractilité des muscles cardiaques. Une étude utilisant l'échographie cardiaque a démontré que la chaleur augmente l'accélération isovolumétrique ainsi que la vitesse maximale du tissu de l'anneau mitral, indiquant une augmentation de la contractilité des myocytes (Brothers et al., 2009). L'effet net de ces paramètres résulte en un VES qui demeure constant lors d'une exposition passive à la chaleur (Figure 19).





**Figure 19 : Représentation schématique des réponses cardiovasculaires lors de l'exposition à la chaleur.** La vasodilatation cutanée ainsi que la diminution du débit sanguin splanchnique et rénale permettent d'augmenter le flux sanguin cutané pour permettre la perte de chaleur avec l'environnement. Lors de l'exposition à la chaleur, la fréquence cardiaque (FC) augmente alors que le volume d'éjection systolique (VES) reste constant. Ceci a pour effet d'augmenter le débit cardiaque, qui compense la baisse de la résistance vasculaire périphérique afin d'assurer un maintien de la pression artérielle (Illustration créée avec Biorender).

### 2.3.2.2. Forces de cisaillement antérograde et rétrograde

La chaleur augmente la contrainte de cisaillement antérograde et diminue la contrainte de cisaillement rétrograde. L'exposition des cellules endothéliales à la contrainte de cisaillement antérograde durant l'exposition à la chaleur pourrait induire une cascade d'évènements qui contribue à des adaptations de la fonction vasculaire. Une étude chez des jeunes adultes en santé a examiné si la contrainte de cisaillement améliore la fonction endothéliale en utilisant la méthode de la FMD. L'exposition de l'avant-bras pendant 30 minutes dans l'eau chaude (40°C) a augmenté la contrainte de

cisaillement antérograde et a réduit la rétrograde. Une amélioration de la fonction endothéliale a été observée à la suite de la période d'immersion en eau chaude (Tinken et al., 2009). Cette amélioration a été attribuée à l'augmentation de la contrainte de cisaillement puisqu'une diminution de la fonction endothéliale a été observée au niveau du bras contralatéral, également placé dans l'eau chaude mais sur lequel un brassard a été placé pour minimiser l'augmentation de la contrainte de cisaillement antérograde (Tinken et al., 2009).

### **2.3.2.3. La chaleur induit la production de HSP**

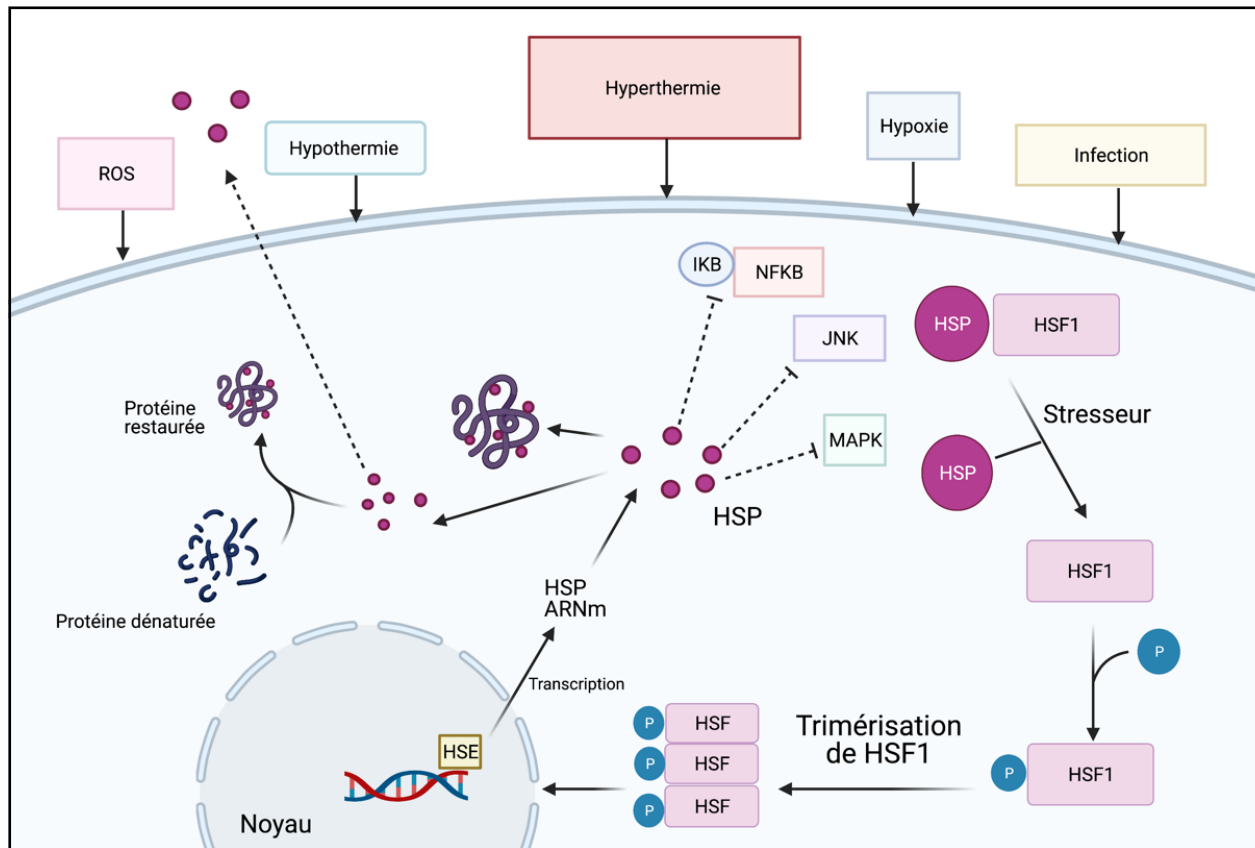
Les HSP sont des chaperonnes intracellulaires qui sont exprimées de façon naturelle dans presque toutes les cellules. Le rôle fonctionnel des « chaperons moléculaires » est de se lier spécifiquement à des protéines nouvellement formées ou anormales afin de donner une conformation tridimensionnelle adéquate et fonctionnelle (Buchner, 1999). Ces chaperonnes interviennent au niveau du repliement des protéines lors de la synthèse naissante de la chaîne polypeptidique, la translocation des protéines à travers les membranes, le contrôle de qualité dans le réticulum endoplasmique et le renouvellement normal des protéines (Moseley, 1997).

Les HSP ont été découvertes pour la première fois en 1962 (Ritossa, 1962) et décrites comme un ensemble de protéines dont l'expression est augmentée lors d'un stress cellulaire tel que l'hypoxie (Marber et al., 1995), la radiation (Barbe et al., 1988), l'inflammation (Jaattela & Wissing, 1993) et la chaleur (Gibson et al., 2016). Ces protéines sont principalement classées en 2 sous-groupes : les petites protéines de choc thermique (sHSP) qui modulent la stabilité du protéome de manière indépendante de l'ATP (HSP27) et celles qui dépendent de l'ATP (la famille HSP47, HSP60, HSP70, HSP90) (Saibil, 2013). Les sHSP ont un rôle en tant que co-chaperones (protéines aidantes) modulant l'activité des autres HSP, alors que les HSP sont responsables de la liaison de substrats protéiques mal repliés et de leur transfert ultérieur vers les chaperons dépendants de

l'ATP ou vers les dégradateurs des protéines comme les protéasomes ou les autophagosomes (Haslbeck et al., 2005; Vos et al., 2008). Les HSP ont des fonctions différentes selon leurs emplacements. Les HSP circulantes ont un effet pro-inflammatoire et les HSP intracellulaires ont un effet anti-inflammatoire (Krause et al., 2015). Il a été observé que la capacité à produire des HSP diminue avec le vieillissement chez des personnes saines et chez des personnes ayant le diabète de type 2 (Jin et al., 2004; Kurucz et al., 2002).

#### **2.3.2.3.1. Le rôle des protéines de choc thermique 70 (KDa 70)**

La famille des HSP70 est la plus étudiée, la plus abondante et la plus conservée. Sa structure est composée de deux domaines : une extrémité N-terminale hautement conservée à l'activité ATPase et une extrémité C-terminale moins conservée se liant à des peptides. Dans des conditions physiologiques, HSP70 est faiblement exprimée et se trouve dans le cytosol, où elle exerce sa fonction de chaperonne pour les protéines en cours de maturation (Feige & Polla, 1994). Après l'exposition à un choc thermique, un stress oxydatif ou l'hypoxie, le facteur de transcription de choc thermique (HSF-1) présent dans le protoplasme sous une forme de monomère subit une conversion en état tridérique dans le cytoplasme. Une fois phosphorylé, HSF-1 migre dans le noyau, où il se lie à son promoteur *heat shock element* (HSE) sur l'ADN augmentant ainsi la synthèse de HSP intracellulaire (Morimoto, 1991; Sorger, 1991). Ensuite, HSP70 se lie à des séquences hydrophobes de protéines dénaturées (Bukau & Horwich, 1998) ou s'associe à l'inhibiteur de NF $\kappa$ B pour inhiber son activité de kinase. HSP70 se lie également à JNK ou à MAPK pour inhiber les voies mitogènes. Le HSP72 interagit avec *dual leucine* portant la kinase-1 (DLK-1) responsable de l'activation de JNK (Jin & Zheng, 2019). Ces processus protégeront les cellules contre des niveaux élevés de cytokines inflammatoires empêchant ainsi la mort cellulaire (Figure 20).

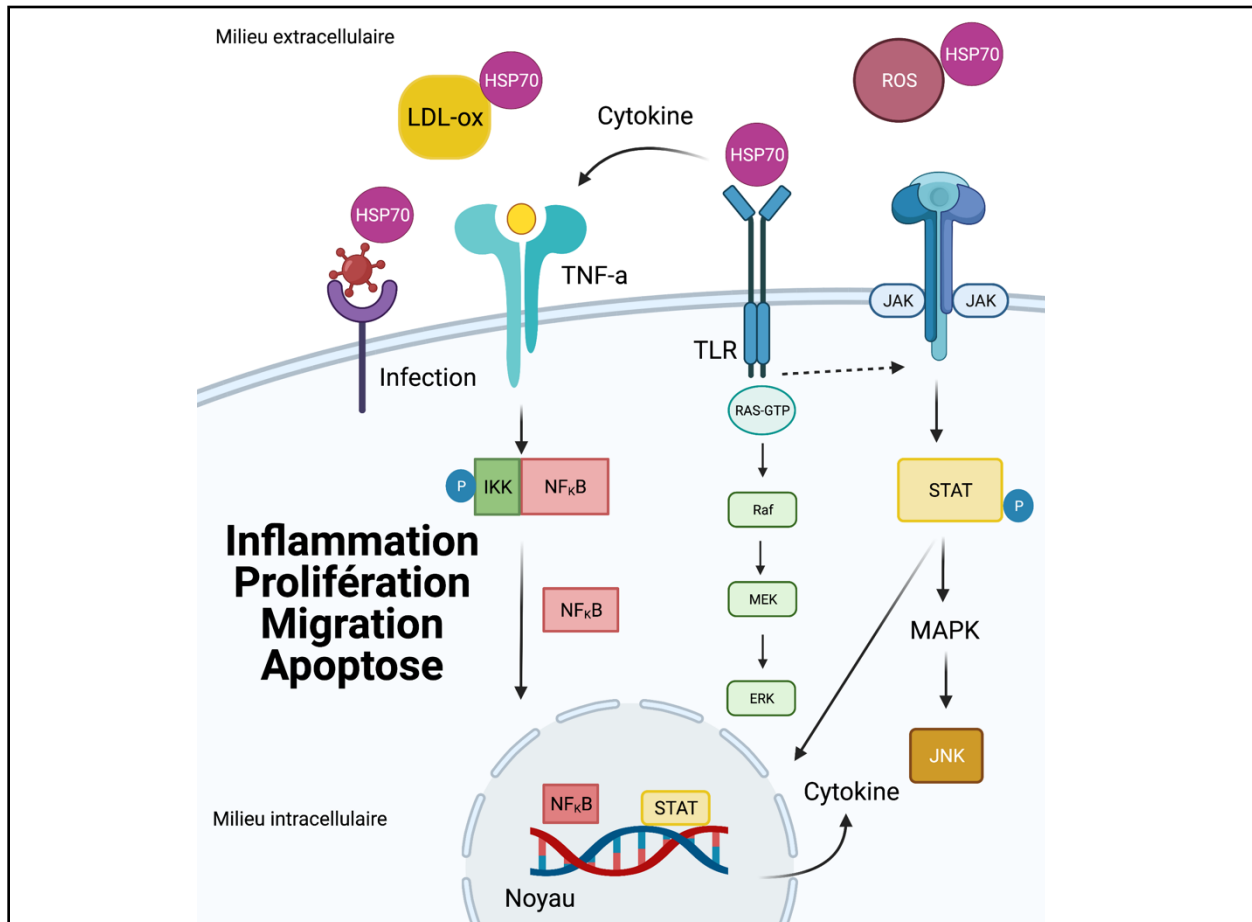


**Figure 20 : Représentation graphique du cycle de HSP70.** Un stress cellulaire (hyperthermie, infection, hypoxie, stress oxydatif) stimule la production de la protéine de choc thermique 70 (HSP70) en agissant sur le *heat shock transcription factor-1* (HSF-1) présent sous forme inactive dans le cytoplasme. Après une phosphorylation et une trimérisation de HSF-1, ce dernier migre dans le noyau en se liant au site *heat shock element* (HSE) de l'ADN codant pour les HSP70. Les HSP70 se lient à des séquences hydrophobes des protéines dénaturées ou mal repliées afin de restaurer leurs fonctions. Les HSP70 se lient aussi à l'inhibiteur de NF $\kappa$ B pour inhiber son activité de kinase ou se lient à c-Jun N-terminal kinase (JNK) ou à *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) pour inhiber les voies mitogènes (Illustration créée avec Biorender et inspirée de (Hassan et al., 2019)).

Il a été d'abord suggéré que les HSP70 circulantes sont libérées en réponse à des cellules nécrotiques (Gallucci et al., 1999). Maintenant, il est reconnu que HSP70 peut

être libérée par exocytose des cellules non nécrotiques telles que les cellules mononuclées du sang périphérique (Lancaster & Febbraio, 2005), les cellules B (Clayton et al., 2005) et les cellules tumorales (Gastpar et al., 2005). Un taux élevé de HSP70 circulant pourrait entraîner une réponse inflammatoire suractivée (Johnson & Fleshner, 2006). En milieu extracellulaire, HSP70 peut se lier à différents récepteurs de surface cellulaire tels que TLR2 et TLR4 qui sont étroitement associés à la provocation de la production de cytokines inflammatoires. Les TLR sont exprimés à la surface de nombreuses cellules impliquées dans l'immunité innée, telles que les neutrophiles et les macrophages et également exprimés par les cellules qui contribuent à l'immunité adaptative, telles que les lymphocytes B et T (Imler & Hoffmann, 2001). Le complexe HSP70/TLR active le NF $\kappa$ B en inhibant la phosphorylation de IKK.

De plus, dans le milieu extracellulaire les HSP permettent l'activation de NADPH oxydase qui catalyse la production de ROS. Les ROS stimulent la kinase régulée par le signal extracellulaire (ERK) qui à son tour active les voies mitogènes (JAK/STAT, MAP kinase). Les voies mitogènes stimulent ensuite la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, la croissance et la différenciation cellulaire et l'apoptose des cellules (Asea, 2007; Xu et al., 1997). Le stress oxydatif conduit à l'oxydation des LDL-ox qui stimulent directement les cellules de la paroi artérielle ou d'autres tissus pour libérer des HSP. Le LDL-ox est généralement reconnu par le récepteur 1 des lipoprotéines oxydées de basse densité, de type lectine (LOX-1). Le LDL-ox est alors phagocyté par des macrophages, qui se transforment en cellules spumeuses et attirent les cellules immunitaires au niveau du site inflammatoire. Au niveau des cellules endothéliales, LOX-1 stimule l'expression de la HSP70 circulant (Inoue & Sawamura, 2007) (Figure 21). Un taux élevé de HSP70 circulant et une baisse de concentration intracellulaire ont été observés chez des patients atteints d'hypertension (Pockley et al., 2002), d'athérosclérose (Pockley et al., 2003) et de diabète (Bruce et al., 2003).



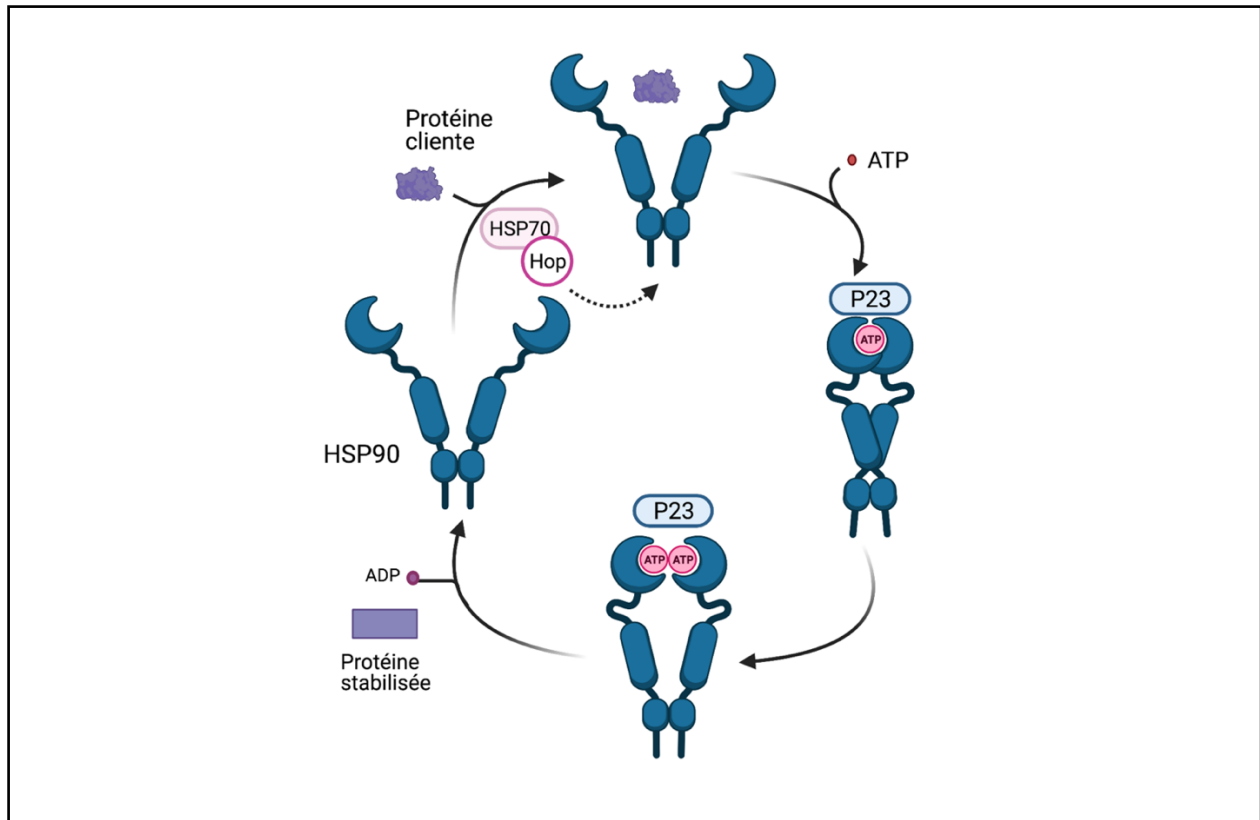
**Figure 21 : Représentation graphique du rôle de HSP70 circulant.** La protéine de choc thermique 70 (HSP70) est libérée dans des conditions de stress oxydatif, d'augmentation de ROS, de LDL-ox et de cytokines pro-inflammatoires. La HSP70 interagit avec ces facteurs pour activer le NF $\kappa$ B par TNF-a, la voie de la kinase activée par un mitogène (MAPK) et la voie c-Jun N-terminal kinases (JNK). Elle peut aussi se lier aux récepteurs de type Toll (TLR) qui stimulent la libération de cytokines. Tous ces processus induisent une inflammation, une prolifération, une migration et une apoptose cellulaire (Illustration créée avec Biorender).

### 2.3.2.3.2. Le rôle des protéines de choc thermique 90 (KDa 90)

La HSP90 est localisée au niveau du cytoplasme (Haverinen et al., 2001) et au niveau du noyau (Picard, 2006). Dans des conditions physiologiques, HSP90 constitue ~1–2% de la quantité totale de protéines cellulaires et son abondance augmente de ~2 fois lors d'un stress physiologique et pathologique (Buchner, 1999; Whitesell & Lindquist,

2005). Les niveaux physiologiques agissent comme un tampon pour protéger contre une augmentation soudaine du nombre de protéines non natives et dégradées (Buchner, 1999). Il existe deux isoformes, HSP90 $\alpha$  (forme inductible) et HSP90 $\beta$  (forme constitutive), respectivement codées par les gènes HSP90AA1 et HSP90AB1 qui sont 86% homologues entre elles (Johnson, 2012). Sa structure est composée de trois domaines : **1**) un domaine N-terminal à activité ATPase (Panaretou et al., 1998); **2**) un domaine central impliqué dans la reconnaissance et la liaison des protéines clientes (Riggs et al., 2004); **3**) un domaine C-terminal responsable de la dimérisation de HSP90 comprenant un site de liaison à la calmoduline (Minami et al., 1993) et un deuxième site de fixation de l'ATP quand le site N-terminal est occupé (Soti et al., 2003).

Le cycle de HSP90 se fait à l'aide d'un grand nombre de cochaperones qui aident à coordonner et à libérer des protéines clientes. La première étape est la liaison d'ATP au site spécifique et ensuite à l'adhérence de la protéine cliente. Par la suite, le domaine N-terminal (NTD) intervient pour fermer le site. Puis, la chaperonne (Aha1) agit pour accélérer le cycle ATPase et la dimérisation de HSP90 (en forme de V). Ensuite, la chaperonne p23 survient pour stabiliser le dimère HSP90 lié à l'ATP fermé. Après l'hydrolyse de l'ATP, la protéine cliente et le p23 sont libérés ce qui conduit à l'état semi-ouvert d'adénosine diphosphate (ADP) avec les domaines HSP90-NTD partiellement préparés pour une nouvelle protéine cliente (Astl et al., 2020). Une caractéristique intéressante de HSP90 est sa coopération avec d'autres chaperonnes, notamment le HSP70 (Schopf et al., 2017). Dans les cellules eucaryotes, la chaperonne Sti1 / Hop favorise le lien entre HSP70 et HSP90 (Johnson et al., 1998). HSP70 se lie aux segments hydrophobes enrichis de leucine des protéines presque dépliées tandis que HSP90 reconnaît les sites hydrophobes de repliement tardif (Karagöz et al., 2014) (Figure 22).



**Figure 22 : Représentation graphique du cycle de HSP90.** La protéine de choc thermique 90 (HSP90) se lie à la protéine dénaturée. Ensuite, la liaison de l'ATP au domaine N-terminal induit la dimérisation et l'état fermé de HSP90. La cochaperonne p23 intervient pour stabiliser le dimère HSP90 lié à l'ATP. Une fois l'ATP hydrolysé, les domaines N-terminaux se dissocient, libérant ainsi l'ADP et la protéine stabilisée où elle retrouve sa conformation d'origine. La protéine HSP90 peut coopérer avec d'autres HSP comme HSP70 (Illustration créée avec Biorender et inspirée de (Leach et al., 2012)).

Le HSP90 intracellulaire sert de tampon contre les dommages oxydatifs. Cette protéine stabilise et augmente l'affinité du calcium pour le complexe calcium-calmoduline afin d'améliorer l'interaction HSP90-eNOS (Dhindsa et al., 2004). Une surexpression de HSP70 et HSP90 au niveau des cellules endothéliales induit l'expression de la eNOS et inhibe la production de vasoconstricteurs tel que ET-1 (Gratton et al., 2000; Uchiyama et al., 2007). HSP90 contribue également à maintenir l'activité de la PKB/AKT qui participe à la régulation à la fois du transport du glucose stimulé par l'insuline et de la synthèse du



glycogène (Atalay et al., 2009). Les cellules au repos ne sécrètent pas HSP90 à moins d'être déclenchées par différents types de stress (Cheng et al., 2008) y compris les ROS, l'hypoxie, les cytokines et la chaleur (Clayton et al., 2005; Li et al., 2007; Tsutsumi & Neckers, 2007). Une fois déclenchées, les HSP90 sortent de la cellule par 2 voies ; la première est par la sécrétion des protéines dans le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi. Cette voie exige que la protéine sécrétée ait un peptide signal (SP) de 15 à 30 acides aminés à son extrémité amino-terminale et l'utilise comme « autorisation » pour sortir de la cellule (Banfield, 2011). La deuxième voie de sécrétion des protéines est par des exosomes, qui sont utilisés pour sécréter des protéines qui n'ont pas de séquences SP (Denzer et al., 2000). Les exosomes sont des nano-vésicules (40-90 nm de diamètre) sécrétés par différentes cellules telles que les lymphocytes B et T, les cellules dendritiques, les mastocytes et les cellules épithéliales (Skokos et al., 2001; van Niel et al., 2001; Zitvogel et al., 1998). Il a été suggéré que les cibles en aval de HSP90 circulant pourraient être des métalloprotéases matricielles (MMP) (Eustace et al., 2004), le facteur de croissance TGF- $\beta$  (Suzuki & Kulkarni, 2010), mais aussi le TLR (Triantafilou & Triantafilou, 2004) qui permettent d'augmenter la migration et la prolifération cellulaire et induire l'inflammation.

#### **2.3.2.3.3. L'induction des HSP par la chaleur et leurs effets sur la santé cardiométabolique**

Des stratégies de traitement telles que la thérapie par chaleur et l'exercice sont utilisées pour stimuler la production de HSP intracellulaire afin de prévenir la dysfonction métabolique ou la dysfonction endothéliale (Jason Chung et al., 2008; Milne & Noble, 2002). Une étude animale a démontré que l'exposition de souris à 5 jours d'acclimatation à la chaleur (42°C, 40 min), induit l'expression de HSP72 et HSP90 dans la rate, le cerveau et les tissus cardiaques (Sareh et al., 2011). L'induction de HSP70 et HSP90 peut avoir de larges avantages thérapeutiques pour contrer le stress oxydatif, l'inflammation et le découplage de la eNOS vasculaire. La capacité de HSP à inhiber la libération de

cytokines pro-inflammatoires par les macrophages et les lymphocytes pourrait être critique afin de réduire l'inflammation locale et atténuer le développement de la résistance à l'insuline (Sondermann et al., 2000). Par exemple, l'incubation des monocytes de personnes obèses à la chaleur (2h à 42°C) a induit l'expression des HSP72 dans ces cellules et a réduit des marqueurs inflammatoires tels que IKKB et JNK mesurés par cytométrie en flux (Simar et al., 2012). Plusieurs études animales ont observé que la diminution de l'activité des voies JNK et IKKB améliore la fonction du récepteur de l'insuline. Une étude animale a démontré que la surexpression de HSP72 dans le muscle squelettique de souris transgéniques peut réduire la phosphorylation de JNK, ce qui a protégé les souris contre une résistance à l'insuline induite par une diète riche en lipides (Chung et al., 2008). Une deuxième étude animale a démontré qu'un traitement thermique hebdomadaire (température interne à 41°C pendant 20 minutes) pendant 12 semaines entraîne une augmentation de l'expression de HSP72 dans le muscle squelettique de souris nourries d'une diète riche en lipides. L'induction de HSP72 par la chaleur a empêché la phosphorylation de JNK et IKKB. Le traitement thermique a aussi augmenté l'absorption du glucose stimulée par l'insuline et la phosphorylation de l'IRS-1 et AKT dans le muscle squelettique. Cette étude a aussi démontré que la glycémie est diminuée lors d'un test de tolérance au glucose intraveineux 48h après l'exposition à la chaleur, comparativement au groupe non exposé à la chaleur (Anisha et al., 2009). Concernant les HSP chez l'humain, les résultats restent mitigés. Par exemple, des personnes âgées (âge moyen 62 ans) ayant un diabète de type 2 ont été immergées dans un bain chaud à 42°C pendant 60 min. Le niveau circulant de HSP70 a été augmenté 30 minutes après l'exposition à la chaleur et est resté élevé 3 heures après l'exposition à la chaleur, comparé à une condition témoin (chambre thermoneutre) (James et al., 2021). Par contre, une étude chez des jeunes adultes sédentaires (âge moyen 33 ans) a démontré que 60 minutes d'immersion en eau chaude (39.4°C) n'augmente pas l'expression de HSP72 circulant au niveau des monocytes et ce, même après 2 semaines d'exposition à la chaleur (Hoekstra et al., 2018).

### **2.3.3. Effets de la chaleur sur la glycémie**

#### **2.3.3.1. Effets chronique et aigu de la chaleur sur la glycémie**

L'impact de l'exposition à la chaleur sur le contrôle de la glycémie chez des personnes ayant un diabète de type 2 a été suggéré la première fois dans l'étude de Hooper (Hooper, 1999). Dans cette étude, huit participants d'âge moyen (43 à 68 ans) atteints de diabète de type 2 ont participé à une intervention de bain chaud pendant 3 semaines (~40°C, 6x/semaine). Après l'intervention, une diminution de la glycémie (de 20%) et de l'hémoglobine glyquée (de 10%) à jeun a été observée dans cette population (Hooper, 1999). Par contre, les mécanismes pouvant induire ces effets bénéfiques n'ont pas été évalués dans cette étude et il n'y avait pas de groupe témoin afin de comparer les résultats obtenus. Plusieurs études animales ont évalué les mécanismes potentiels des bienfaits de la chaleur contre la résistance à l'insuline et l'hyperglycémie. Une étude animale a exposé des souris nourries d'une diète normale ou riche en gras à la chaleur hebdomadaire (couverture chauffante, température interne à 41°C pendant 15 minutes) pendant 16 semaines. Le groupe témoin comportait deux groupes de souris nourries d'une diète riche en lipides ou normale non exposées à la chaleur. Après l'intervention, dans le groupe non exposé à la chaleur, la diète riche en gras a augmenté l'air sous la courbe de la glycémie lors d'un test de tolérance au glucose intraveineux, alors que ceci a été minimisé dans le groupe exposé à la chaleur. Ces résultats ont démontré que la chaleur peut protéger contre une hyperglycémie induite par une diète riche en lipides. Cette amélioration était associée à une diminution de la phosphorylation de JNK dans le muscle squelettique des souris nourries d'une diète riche en lipides exposées à la chaleur, comparativement au groupe témoin (diète normale sans exposition à la chaleur et diète riche en lipides sans exposition à la chaleur) entraînant une signalisation de l'insuline améliorée (phosphorylation AKT augmentée) (Chung et al., 2008). Dans une deuxième partie, ils ont vérifié l'hypothèse que l'expression de HSP72 diminue le JNK. Pour vérifier cette hypothèse, les auteurs ont développé des souris transgéniques surexprimant le HSP72. La surexpression de HSP72 dans le muscle squelettique a empêché la

phosphorylation de JNK induite par une diète riche en lipides. Pour confirmer si la chaleur est vraiment un facteur important dans l'induction de HSP72, les auteurs ont stimulé l'expression de HSP72 dans les adipocytes en utilisant le BGP-15, un dérivé d'hydroxylamine (activateur de HSP72). Les résultats ont démontré que le traitement des adipocytes par le BGP-15 n'active pas le HSF-1, ni le HSP72. Par contre, lorsque les cellules ont été chauffées à 41°C et co-traitées avec BGP-15, les expressions de HSF1 et HSP72 ont été nettement augmentées au-dessus de celles du traitement thermique seul. Ces résultats confirment le rôle de la chaleur dans la stimulation de HSP72 (Chung et al., 2008). Les résultats de l'étude de Chung *et al.* ont été confirmés par une deuxième étude animale (Anisha et al., 2009). Afin de développer une résistance à l'insuline, des souris ont été nourries d'une diète riche en lipides et comparées à des souris nourries d'une diète normale pendant 12 semaines. Durant les 12 semaines de diète, les 2 groupes de souris ont été soumis en parallèle à un traitement thermique hebdomadaire dans un bain d'eau chaude ou neutre. Le protocole consistait à augmenter la température interne à 41°C et la maintenir pendant 20 minutes, alors que pour le groupe témoin la température interne était maintenue à 36°C. Après l'intervention, la phosphorylation de l'IRS1 et d'AKT a augmenté dans le groupe exposé à la chaleur nourri d'une diète riche en gras comparé au groupe nourri d'une diète riche en gras non exposé à la chaleur. Le traitement thermique a également induit une augmentation de l'expression de HSP72 dans plusieurs organes tel que le tissu adipeux, le muscle squelettique et le foie, ce qui a permis de réduire les marqueurs d'inflammation (IKKB, JNK) (Anisha et al., 2009). Tous ces mécanismes ont fait en sorte que la glycémie a été réduite lors d'un test de tolérance au glucose intraveineux dans le groupe exposé à la chaleur comparé au groupe témoin non exposé à la chaleur (Anisha et al., 2009). Cette étude démontre que l'exposition à la chaleur améliore la signalisation d'insuline et la tolérance au glucose. Une troisième étude animale a regardé l'effet de la chaleur sur la sensibilité à l'insuline dans un modèle de souris diabétiques. Les souris diabétiques (db / db) qui présentaient une hyperglycémie, ont été exposées à la chaleur (60°C pendant les 5 premières minutes, puis à 40°C

pendant 30 minutes) par l'entremise de rayons infrarouges lointains (3x/semaine pendant 4 semaines). Le groupe de souris non diabétiques (souris db/+) a été logé dans un environnement hypothermique à 22°C. Lors de l'exposition à la chaleur, la température rectale a été maintenue à 38°C pendant 30 minutes. Un test de tolérance à l'insuline intraveineux a été réalisé 24h après la dernière exposition à la chaleur. Les souris diabétiques exposées à la chaleur avaient une concentration plasmatique de glucose réduite en réponse à l'insuline administrée et une augmentation d'ARNm de GLUT4 comparé au groupe de souris diabétiques non exposées à la chaleur. L'exposition à la chaleur a aussi entraîné une diminution des triglycérides et des acides gras libres (Kokura et al., 2007).

Le muscle squelettique est l'organe principal qui absorbe le glucose. Des changements dans la signalisation de cet organe peuvent fournir des informations supplémentaires sur les mécanismes par lesquels la chaleur diminue la glycémie, lors de l'exposition à la chaleur chronique. Des cellules du muscle squelettique soléaire de rats âgés (24 mois) incubés à 42°C pendant 30 minutes ont augmenté l'absorption du glucose stimulée par l'insuline 12h après l'exposition à la chaleur, comparativement aux cellules exposées à une température de 35°C. Les données ont aussi démontré que le traitement thermique aigu entraîne une diminution de la phosphorylation de JNK dans le muscle squelettique et que cette diminution semblait dépendre de l'induction de HSP72 (Gupte et al., 2011), puisque l'inhibition de l'expression de HSP72 par KNK437 (inhibiteur de HSP) a éliminé l'effet bénéfique de la chaleur. Les études animales ont bien démontré que l'exposition à la chaleur améliore la sensibilité à l'insuline et que cette amélioration est due à l'expression d'HSP72 induite par la chaleur chronique et aiguë.

Les effets bénéfiques de la chaleur sur la sensibilité à l'insuline dans des populations en santé ou symptomatiques restent toujours mitigés. Il a été précédemment démontré que l'exercice peut avoir un effet protecteur contre l'inflammation suite à la

sécrétion d'IL-6 et HSP70 (Gleeson et al., 2011; Steensberg et al., 2003). Une étude a voulu regarder si la thérapie par la chaleur peut être en mesure de reproduire les mêmes effets que l'exercice. Douze jeunes en santé ont participé à 60 minutes d'immersion en eau chaude (40°C) et à 60 minutes d'exercice (cycle fixe) dans une chambre thermique. Trois heures après chaque condition, les participants ont consommé un repas standardisé. La glycémie en continu (CGM) a été mesurée pendant 2 heures après le repas pour calculer l'aire sous la courbe du glucose et le pic maximal de glucose. Les résultats ont démontré une augmentation de la concentration circulante d'IL-6 et de HSP70 dans les deux conditions. L'immersion en eau chaude a entraîné une diminution plus prononcée du pic du glucose après la consommation du repas par rapport à la condition d'exercice. Par contre, l'aire sous la courbe du glucose n'était pas significativement différente après l'immersion en eau chaude par rapport à l'exercice (Faulkner et al., 2017). Dans une deuxième étude, l'effet seul de la chaleur sur le profil inflammatoire et métabolique a été évalué chez des jeunes adultes sédentaires. Un groupe a participé à une intervention d'immersion en eau chaude de 60 minutes (39°C, 10 sessions en 2 semaines) et un groupe témoin est demeuré assis dans une chambre thermoneutre (29°C). La concentration du glucose sanguin à jeun a diminué après l'intervention de bain chaud. En revanche, la concentration d'insuline à jeun et les niveaux circulants d'IL-6 et de HSP72 n'ont pas changé après l'intervention de bain chaud comparé au groupe témoin (Hoekstra et al., 2018). Une étude chez une population plus âgée a évalué si une acclimatation à la chaleur peut avoir un impact sur la sensibilité à l'insuline et si elle stimule une augmentation de HSP72. Onze hommes sédentaires d'âge moyen (65 ans) ont été exposés à la chaleur dans une chambre climatique (~34°C, 4 à 6 heures/jour). L'intervention n'a pas affecté l'expression de HSP72 dans le muscle squelettique et la sensibilité à l'insuline lors d'un clampé euglycémique-hyperinsulinémique. Par contre la production de glucose endogène a diminué après l'intervention (Pallubinsky et al., 2020).

Contrairement aux études mentionnées plus haut, Leicht *et al.* ont démontré que l'immersion en eau chaude (39.2°C) augmente la glycémie et l'aire sous la courbe de glucose pendant un OGTT effectué 60 minutes après l'exposition à la chaleur, comparativement à une intervention témoin durant laquelle les participants étaient assis à température ambiante (23.2°C) (Leicht *et al.*, 2019). Cette étude a observé une élévation aiguë des concentrations plasmatiques d'adrénaline et de l'hormone de croissance après l'immersion en eau chaude. Ceci pourrait expliquer l'augmentation de la glycémie pendant l'OGTT, puisqu'une stimulation adrénergique peut stimuler la production de glucose hépatique (Aschenbach *et al.*, 2002; Yuen *et al.*, 2013). Une étude plus récente a évalué les mécanismes observés dans les études animales au niveau de la sensibilité et de la signalisation de l'insuline dans une population clinique. Neuf femmes obèses atteintes du syndrome des ovaires polykystiques ont participé à une intervention de bain chaud (~40°C, 3-4x/semaine) et les participants dans la condition témoin n'ont pas été exposés à la chaleur (n=8). La chaleur a induit une augmentation de HSP27 et une diminution de IKK $\beta$  dans le tissu adipeux ainsi qu'une baisse des marqueurs pro-inflammatoires circulants (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ,) comparativement à la condition témoin. L'intervention à la chaleur a aussi augmenté la phosphorylation de l'AKT dans le tissu adipeux. Effectivement, l'augmentation de la signalisation du récepteur à l'insuline a permis de diminuer la glycémie lors d'un test de tolérance au glucose qui a été effectué après 8 semaines d'intervention (Ely, Clayton, *et al.*, 2019). Il reste à savoir si les mêmes effets sont observés lors d'une exposition aiguë à la chaleur dans d'autres populations symptomatiques, dont le diabète de type 2. À ce jour, 2 études ont évalué l'effet aigu de la chaleur sur la sensibilité à l'insuline chez cette population. Rivas *et al.* (Rivas *et al.*, 2016) ont démontré qu'une immersion en eau chaude n'améliore pas la tolérance au glucose chez une population ayant un diabète de type 2. Neuf personnes ayant un diabète de type 2 et 9 personnes en santé ont été immergées pendant 60 minutes en eau chaude (39.4°C). Vingt-quatre heures après l'immersion, un OGTT a été effectué pour évaluer les changements des concentrations plasmatiques de glucose, d'insuline et de peptide C. Les

auteurs ont observé que l'immersion en eau chaude n'affecte pas l'aire sous la courbe de glucose, d'insuline et de C-peptide comparativement à une condition témoin qui consistait à rester dans une chambre à température thermoneutre (23°C). L'une des raisons de cette observation pourrait être que l'OGTT a été effectué 24h après l'exposition à la chaleur et que les participants étaient sous médication, faisant en sorte de minimiser l'effet possible de la chaleur (Rivas et al., 2016). Une étude récemment publiée a examiné la glycémie pendant un OGTT effectué pendant ou 30 minutes après une immersion en eau chaude (60 minutes, 40°C) chez des personnes atteintes de diabète de type 2. L'étude a démontré que la concentration et le pic de glucose durant l'OGTT n'ont pas été affectés par la chaleur, tant pour l'OGTT effectué pendant l'immersion que celui effectué 30 minutes après l'immersion (James et al., 2021).

En conclusion, des études animales ont bien démontré que l'exposition à la chaleur diminue la glycémie de façon chronique et aiguë. Ces études ont démontré les mécanismes par lesquels la chaleur améliore la sensibilité à l'insuline. Chez l'humain, une seule étude auprès de femmes ayant un syndrome des ovaires polykystiques a considéré des mécanismes potentiels par lesquels la chaleur pourrait diminuer la glycémie. Ces mécanismes demeurent donc peu étudiés chez les personnes ayant des complications métaboliques, dont le diabète de type 2. L'étude réalisée par Hopper (Hopper, 1999) a démontré une baisse de la glycémie et de l'hémoglobine glyquée après une intervention de bain chaud chez des personnes atteintes du diabète de type 2. Par contre, cette étude n'a pas évalué par quels mécanismes la chaleur diminue ces paramètres. Il est important de préciser que les effets aigus de la chaleur sur la glycémie demeurent mitigés. Il est donc difficile de déterminer si des effets aigus de la chaleur contribuent aux effets observés lors d'interventions chroniques. Quelques raisons potentielles qui pourraient sous-tendre les effets aigus mitigés de la chaleur incluent un délai trop long entre le test de tolérance au glucose et l'exposition à la chaleur (ex : 24h), une durée d'exposition trop courte (ex : 60 min) et l'absence de condition témoin. Des études additionnelles qui



considèrent ces paramètres sont requises pour caractériser l'effet aigu de l'exposition à la chaleur, afin de déterminer si les adaptations bénéfiques observées en chronique sont dues à une accumulation d'effets aigus.

#### **2.3.4. Effets de la chaleur sur la fonction vasculaire**

##### **2.3.4.1. Effet de la chaleur sur la santé cardiovasculaire**

L'exposition passive à la chaleur peut représenter un moyen de prévention pour améliorer la santé cardiovasculaire. Une étude prospective a évalué la relation entre la fréquence et la durée d'utilisation du sauna finlandais et le risque de mort cardiaque subite (Laukkanen et al., 2015). Plus de 2 000 hommes Finlandais d'âge moyen (42 à 60 ans), ayant ou non des maladies cardiométaboliques, ont été divisés en 3 groupes selon leur fréquence et leur durée d'utilisation du sauna finlandais. Après un suivi de 20 ans, il a été observé qu'une utilisation du sauna finlandais >3 fois par semaine ou >19 minutes par séance était associée à un risque réduit de la mortalité cardiaque subite et également de mortalité coronarienne, de mortalité cardiovasculaire et de mortalité de toute cause chez une population mixte d'hommes ayant ou non des maladies cardiométaboliques. Récemment, une deuxième étude prospective a évalué la fréquence d'utilisation du bain chaud japonais (*onsen*, ~40°C) et le risque de maladies cardiovasculaires. Dans cette étude, plus de 6 000 hommes et femmes d'origine Japonaise et d'âge moyen (40 à 59 ans) ont été divisés en 3 groupes selon la fréquence d'utilisation du bain chaud ( $\leq 2x$ /semaine, 3-4x/semaine, 5-7x/semaine). Cette étude a observé que le groupe utilisant un bain chaud 5 à 7 fois par semaine avait un risque moins élevé de développer une maladie cardiovasculaire lors d'une période de suivi de 20 ans (Ukai et al., 2020). Par contre, les mécanismes par lesquels la chaleur améliore la santé cardiovasculaire n'ont pas été étudiés dans ces études prospectives. D'après la littérature, les adaptations potentielles qui pourraient sous-tendre ces observations incluent une amélioration de la fonction endothéliale et microvasculaire, une diminution de la rigidité artérielle et une

augmentation de la concentration de HSP. Ces mécanismes potentiels sont décrits dans les sections qui suivent.

#### **2.3.4.1.1 Fonction macrovasculaire**

Une étude menée par Brunt *et al.* a évalué l'effet d'une intervention de bain chaud pendant 8 semaines (40.5 °C, 60 minutes à température rectale  $\geq$  38.5 °C, 4-5x/semaine) sur des marqueurs de la fonction vasculaire de jeunes adultes sédentaires (18 à 30 ans). Après 8 semaines, lors d'une journée non exposée à la chaleur, les auteurs ont mesuré la fonction endothéliale par la technique de FMD au niveau de l'artère brachiale. En réponse à l'intervention de bain chaud, la FMD a augmenté de 5.6% à 10.9% (Brunt, Howard, et al., 2016). Une étude menée en 2014 a démontré que l'augmentation de la contrainte de cisaillement sous-tend l'amélioration de la fonction endothéliale lors de l'exposition à la chaleur. Des jeunes adultes étaient immergés dans un bain chaud au niveau des hanches, 3x/semaine pendant 8 semaines (30 min à 40°C). Sur l'un des bras, un brassard a été gonflé à 80 mmHg afin d'atténuer l'augmentation de la contrainte de cisaillement durant les expositions à la chaleur. Ensuite, la fonction endothéliale de l'artère brachiale a été mesurée par la technique de FMD au niveau des deux bras. La fonction endothéliale s'est améliorée de la semaine 0 à 4 de l'intervention au niveau du bras sans brassard, alors qu'aucun changement de la fonction endothéliale n'a été observé au niveau du bras sur lequel le brassard était gonflé. Ces résultats démontrent que l'amélioration de la fonction endothéliale dépend de l'augmentation de la contrainte de cisaillement (Carter et al., 2014). Une étude plus récente a aussi démontré que la contrainte de cisaillement est le stimulus qui améliore la fonction endothéliale lors de l'exposition à la chaleur. Dans cette étude, 12 hommes sains (âge moyen 25 ans) ont participé à 3 visites expérimentales : **1)** l'avant-bras gauche et droit ont été chauffés avec de l'eau maintenue à 49°C jusqu'à ce que la température cutanée augmente à  $\sim$ 38°C ; **2)** le corps entier a été chauffé avec une combinaison chauffante (eau à 49°C) dans le but d'augmenter la température centrale de 1.5°C ; **3)** une condition témoin où les participants

étaient assis dans un environnement thermoneutre. Un brassard a été placé sur l'avant-bras droit, gonflé et maintenu à ~90 mmHg tout le long du protocole afin de minimiser l'augmentation de la contrainte de cisaillement durant l'exposition à la chaleur ; alors que sur l'avant-bras gauche il n'y avait pas de brassard. Lors de chacune des conditions, la FMD a été mesuré avant et après sur les 2 bras (sans ou avec brassard). La fonction endothéliale de l'artère brachiale a augmenté après le chauffage local de l'avant-bras et du corps entier dans le bras sans brassard comparativement au bras ayant un brassard. Cette amélioration était associée à une augmentation de la contrainte de cisaillement moyenne après l'exposition aiguë à la chaleur (Coombs et al., 2021). Par contre, les effets de la chaleur sur la fonction endothéliale ne font pas l'unanimité. Une étude a démontré que la chaleur peut avoir un effet contraire sur la fonction endothéliale. Treize hommes en bonne santé ont participé à 3 visites expérimentales; **1)** le corps entier a été chauffé avec une combinaison chauffante (l'eau à 49°C) dans le but d'augmenter la température interne de 1°C; **2)** le corps entier a été chauffé avec une combinaison chauffante (l'eau à 49°C) dans le but d'augmenter la température interne de 1°C avec un gonflage simultané (75 mmHg) d'un brassard placé autour du poignet droit afin de diminuer le flux sanguin de l'artère radiale; **3)** une condition témoin sans exposition à la chaleur. Avant et après l'exposition à la chaleur, la fonction endothéliale a été mesurée par la technique de FMD au niveau de l'artère radiale. Les résultats ont démontré une diminution de la fonction endothéliale de l'artère radiale après l'exposition aiguë à la chaleur, alors que la fonction endothéliale est demeurée inchangée après l'exposition à la chaleur combinée avec un brassard autour du poignet (Alali et al., 2020). Dans une autre étude, la fonction endothéliale a été évaluée par la technique de FMD avant et 60 minutes après l'immersion des jambes dans l'eau chaude à 42°C, chez des adultes sains et en santé. Le débit sanguin et la contrainte de cisaillement moyenne de l'artère brachiale ont augmenté pendant l'immersion en eau chaude comparativement à la condition témoin (33°C). Par contre, les résultats ont démontré que la fonction endothéliale n'a pas été améliorée après 60 minutes d'immersion des jambes en eau chaude (Engelland et al., 2020). Une dernière

étude a démontré que l'immersion des jambes en eau chaude (un bain-marie chauffé à ~42°C, 45 minutes) améliore de façon aiguë la fonction endothéliale d'adultes sains et âgés de 60 à 80 ans mais pas chez de jeunes adultes âgés entre 18 et 35 ans (Romero et al., 2017). Dans l'ensemble, la majorité des études démontrent néanmoins que l'exposition à la chaleur aiguë et chronique peuvent améliorer la fonction endothéliale.

En plus de ces études chez des populations saines, certaines études chroniques ont démontré que l'exposition à la chaleur améliore la fonction endothéliale de populations ayant au moins un facteur de risque pour les maladies cardiovasculaires (diabète, obésité, hypertension, hypercholestérolémie) comparativement à un groupe sain sans facteurs de risque cardiovasculaire. Les participants ont été exposés pendant 2 semaines à un sauna sec infrarouge lointain (60°C pendant 15 minutes). La fonction endothéliale a été évaluée par la technique de FMD au niveau de l'artère brachiale avant et après l'intervention. La mesure de FMD a significativement été améliorée après deux semaines de sauna. Afin de voir si cette amélioration du FMD reflète une amélioration de la fonction endothéliale et/ou une amélioration de la sensibilité du muscle lisse vasculaire ; les auteurs ont également administré de la NTG par voie orale avant et après l'intervention. La vasodilatation en réponse à la NTG n'a pas changé à la suite de l'intervention, suggérant que l'exposition à la chaleur de façon chronique améliore la fonction endothéliale auprès de cette population (Imamura et al., 2001). Ces réponses ont aussi été observées chez des personnes ayant une insuffisance cardiaque. Vingt patients (âge moyen 62 ans) ayant une insuffisance cardiaque de classe II ou III ont été exposés dans un sauna sec à 60°C, 15 minutes par jour pendant 2 semaines. L'étude a montré une amélioration de la fonction endothéliale, mesurée par la méthode de FMD, alors que la dilatation induite par la NTG était similaire avant et après l'intervention (Kihara et al., 2002). La maladie artérielle périphérique est aussi caractérisée par une dysfonction endothéliale et l'athérosclérose des membres inférieurs qui altère l'apport sanguin et provoque des douleurs dans les jambes ou une claudication induite par la marche. Une étude a randomisé 22 adultes (âge

moyen 76 ans) ayant une maladie artérielle périphérique à 12 semaines d'exposition à la chaleur ou d'exercice. L'exposition à la chaleur impliquait un spa supervisé (immersion à la hauteur des épaules) à  $\sim 39^{\circ}\text{C}$  pendant  $\leq 30$  minutes, suivi de  $\leq 30$  min de callisthénie, 3-5 fois par semaine. L'exercice impliquait  $\leq 90$  min de marche supervisée et d'exercice en salle de sport, 1 à 2 jours/ semaine. Tous les participants ont effectué un test de marche supervisé de 6 minutes, en double et séparé par au moins 20 minutes pour assurer une récupération suffisante de la fréquence cardiaque et de la douleur. Après 12 semaines, la distance de marche totale a augmenté dans les deux groupes, la pression artérielle systolique a diminué davantage après l'intervention de chaleur et la fonction endothéliale mesurée par la FMD n'a pas changé en réponses aux 2 interventions. (Akerman et al., 2019). Une dernière étude a déterminé si une exposition à la chaleur peut protéger la fonction endothéliale contre une hyperglycémie induite par un test de tolérance au glucose. Dix hommes atteints de diabète de type 2 (âge moyen 63 ans) et 10 hommes en bonne santé (âge moyen 57 ans) ont participé à l'étude. Trente minutes après le début du test de tolérance au glucose, le flux sanguin a été modifié en chauffant l'avant-bras pendant 30 minutes. Ensuite, la fonction endothéliale a été mesurée par la technique de FMD à 60, 120 et 150 minutes après le test de tolérance au glucose. La chaleur a empêché la dysfonction endothéliale induite par l'hyperglycémie (Greyling et al., 2015). En conclusion, les études chroniques ont démontré que la chaleur peut induire des bénéfices vasculaires auprès de populations en santé (jeunes adultes et personnes âgées), ou ayant des facteurs de risque cardiovasculaire, ainsi qu'en présence de maladie artérielle périphérique. Par contre, les études qui ont démontré une amélioration de la fonction endothéliale impliquaient des interventions d'expositions à la chaleur. De plus, peu d'études ont été effectuées auprès de populations ayant des maladies cardiométaboliques telle que le diabète de type 2 et la maladie coronarienne. La seule étude portant sur des personnes ayant un diabète de type 2 a mesuré la fonction endothéliale après un test de tolérance au glucose avec ou sans chauffage de l'avant-bras. Les effets aigus de l'exposition du corps entier à la chaleur, notamment en réponse

à une immersion en eau chaude, demeurent inconnus auprès de personnes ayant un diabète de type 2. A l'inverse, la plupart des études chez les personnes ayant des facteurs de risque cardiovasculaire ont utilisé le sauna Finlandais comme type de chaleur. Donc des études futures sont nécessaires pour démontrer si la chaleur peut améliorer de façon aigue des marqueurs de la santé cardiometabolique auprès de populations ayant un diabète de type 2 et une maladie cardiovasculaire en utilisant ces types d'exposition à la chaleur.

### Rigidité artérielle

En plus des effets bénéfiques de la chaleur chronique sur la fonction endothéliale, Brunt *et al.* (Brunt, Howard, et al., 2016) ont observé des bienfaits de la chaleur sur d'autres marqueurs vasculaires. Après une intervention de bain chaud pendant 8 semaines (40.5°C, 60 minutes à température rectale  $\geq 38.5$  °C, 4-5x/semaine), les résultats ont démontré que la pression artérielle moyenne, l'épaisseur de la paroi de l'artère carotide et la vitesse de l'onde de pouls ont diminué chez des jeunes adultes sains (18 à 30 ans). Des améliorations au niveau des marqueurs vasculaires après l'exposition à la chaleur ont aussi été observées dans des populations plus âgées. Premièrement, Lee *et al.* (Lee et al., 2018) ont démontré des effets bénéfiques aigus d'une exposition au sauna Finlandais sur des marqueurs de la fonction vasculaire. Cent deux personnes asymptomatiques ayant au moins un facteur de risque cardiovasculaire ont été exposées à une séance de 30 minutes de sauna Finlandais (73°C et 10-20% d'humidité). La vitesse de l'onde de pouls a diminué immédiatement après l'exposition au sauna (9.8 m/s à 8.6 m/s), mais est retournée aux niveaux de base après 30 minutes de récupération. La pression pulsée a également diminué de manière significative après l'exposition au sauna (44.9 mmHg à 39.0 mmHg). Ces résultats démontrent qu'une exposition au sauna Finlandais diminue transitoirement la rigidité artérielle d'adultes présentant au moins un facteur de risque cardiovasculaire (Lee et al., 2018). Deuxièmement, à l'aide d'un questionnaire plus de 800 personnes d'âge moyen (65 ans) ont été divisées en 2 groupes.

Le premier groupe a été sélectionné en fonction de la fréquence d'utilisation du bain chaud (<4, 5 à 6x/semaine et > 7x/semaine) et le deuxième groupe en fonction de la température de l'eau lors de l'immersion (chaude >41°C, moyenne 40–41°C et tiède <40 °C). La fréquence d'utilisation du bain chaud n'était pas significativement associée à la vitesse de l'onde de pouls. Par contre, la température de l'eau était significativement liée à une vitesse d'onde de pouls plus faible. Spécifiquement, la vitesse de l'onde de pouls était plus faible dans le groupe utilisant un bain à 41°C versus moins de 40°C (Kohara et al., 2018). Ces études démontrent que la chaleur chronique pourrait diminuer la vitesse de l'onde de pouls, un marqueur de la rigidité artérielle, à la fois chez des personnes jeunes et âgées.

#### **2.3.4.1.2. Fonction microvasculaire**

Plusieurs études ont évalué l'effet de la chaleur sur la fonction microvasculaire de l'avant-bras. Dans une première étude, dix jeunes adultes sains (âge moyen 23 ans) ont été immergés dans un bain chaud (40.5°C) jusqu'à ce que la température interne atteigne 38.5°C. Une fois atteint, les participants étaient assis dans le bain pendant 60 minutes. Avant et 40 minutes après l'exposition à la chaleur, les auteurs ont mesuré le pic et l'air sous la courbe de l'hyperémie réactive post-occlusion à l'aide de la technique de FMD. Les résultats ont démontré que l'exposition à la chaleur n'augmente pas significativement le pic et l'air sous la courbe de l'hyperémie réactive post-occlusion, étant l'indice de la fonction microvasculaire (Brunt, Eymann, et al., 2016). Une deuxième étude a évalué la fonction microvasculaire chez des adultes sains et en santé. Les participants ont été exposés à une immersion des jambes dans l'eau chaude (42°C) et thermoneutre (33°C) pendant 60 minutes. La fonction microvasculaire a été évaluée avant et après 30 minutes de l'exposition à la chaleur par la technique de FMD. L'air sous la courbe et le pic de l'hyperémie réactive, ne différaient pas entre les conditions après l'exposition à la chaleur (Engelland et al., 2020). Une troisième étude a démontré que l'immersion des jambes en eau chaude (un bain-marie chauffé à ~42°C, 45 minutes) améliorerait de façon aiguë la

fonction microvasculaire chez les adultes sains âgés de 60 à 80 ans alors que la fonction microvasculaire n'a pas été améliorée chez les jeunes adultes entre 18 et 30 ans (Romero et al., 2017). Cette étude démontre que la chaleur améliore la fonction microvasculaire d'une manière dépendante de l'âge. Donc il serait important de regarder l'effet de la chaleur sur la fonction microvasculaire chez une population âgée ayant des complications cardiométaboliques.

En plus des études sur la fonction microvasculaire de l'avant-bras, plusieurs études se sont intéressées pour évaluer l'impact d'une exposition aiguë à la chaleur sur la fonction microvasculaire cutanée. Dans une première étude, les participants (18 à 29 ans) ont immergé un avant-bras dans l'eau chaude (42°C, 60 minutes) alors que l'autre avant-bras était immergé dans un bain d'eau thermoneutre (32°C) pendant 10 jours. Après l'intervention, lors d'une journée non exposée à la chaleur, les auteurs ont mesuré la fonction microvasculaire en chauffant la peau jusqu'à 42°C localement (laser Doppler). Les résultats ont démontré que la vasodilatation cutanée lors du chauffage local de la peau n'a pas été améliorée au niveau du bras immergé dans l'eau chaude (Francisco et al., 2017). A l'inverse Brunt *et al.* ont démontré que l'immersion du corps entier améliore la fonction microvasculaire cutanée. Dix-neuf jeunes sédentaires (18 à 30 ans) ont participé à une intervention de bain chaud de 8 semaines (40.5°C, 60 minutes à température rectale  $\geq 38.5$  °C, 4-5x/semaine). La fonction microvasculaire a été évalué à l'aide du chauffage local de la peau jusqu'à 44°C. Le chauffage de la peau a provoqué une dilatation cutanée et une augmentation de la conductance cutanée, indiquant une amélioration de la fonction microvasculaire. L'administration par microdialyse de *N $\omega$ -Nitro-L-arginine* (L-NNA, inhibiteur non spécifique de la NO synthase) a significativement diminué ces réponses (Brunt, Eymann, et al., 2016). La différence de résultats entre ces 2 études peut possiblement s'expliquer par le type de chauffage utilisé. Le premier est une exposition de l'avant-bras à la chaleur et le deuxième est une exposition du corps entier à la chaleur.



### 2.3.4.1.3. Inflammation et ischémie reperfusion

Depuis quelques années, plusieurs études ont été menées afin d'évaluer l'effet de la chaleur sur les réponses engendrées par une ischémie-reperfusion. Ce dernier est un modèle qui induit une réponse inflammatoire afin d'étudier les réponses engendrées lors d'une dysfonction endothéliale. Brunt *et al.* ont déterminé si la chaleur peut prévenir la diminution de la fonction endothéliale après une ischémie-reperfusion et induire une réponse anti-inflammatoire. En utilisant le même protocole de l'exposition à la chaleur décrit auparavant (8 semaines, 40.5°C, 60 minutes à température rectale  $\geq 38.5^\circ\text{C}$ , 4-5x/semaine), le sérum d'échantillons sanguins a été prélevé avant et après la première visite et après l'intervention de 8 semaines. Le sérum a été ajouté à des cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine. Ensuite, les cellules ont été exposées à une ischémie-reperfusion *ex vivo* qui induit généralement un stress inflammatoire et oxydatif. Le traitement thermique (39°C) des cellules endothéliales traitées avec le sérum des participants de l'intervention de bain chaud a empêché l'activation de NF $\kappa$ B induite par l'ischémie-reperfusion. L'exposition des cellules au sérum collecté après une immersion aiguë en eau chaude n'a pas atténué l'activation de NF $\kappa$ B. Les auteurs ont observé que l'ischémie-reperfusion a induit une augmentation de la concentration d'IL-6 dans les cellules exposées à la chaleur et traitées par le sérum recueilli après une immersion aiguë en eau chaude comparativement aux cellules exposées à une température thermoneutre (37°C) alors que l'exposition des cellules au sérum recueilli à la 8<sup>ème</sup> semaine a empêché l'augmentation d'IL-6 en réponse à l'ischémie-reperfusion. Les auteurs ont également observé une augmentation de la concentration de HSP70 au niveau des PBMC après une immersion aiguë en eau chaude et de manière chronique après 8 semaines d'exposition à la chaleur (Brunt, Jeckell, et al., 2016). L'expression intracellulaire de HSP90 dans les PBMC a également augmentée après une immersion aiguë dans l'eau chaude, mais est restée élevée que de manière chronique chez la moitié des sujets après 8 semaines de bain chaud. Ce groupe de chercheurs a aussi évalué l'effet de la chaleur aigu sur la fonction endothéliale après une ischémie-reperfusion chez des jeunes adultes sains (âge

moyen 23 ans). Les participants étaient immergés dans un bain chaud (40.5°C) jusqu'à ce que leur température interne atteigne 38.5°C. Une fois atteinte, cette température a été maintenue pendant 60 minutes. Après une période de récupération de 60 minutes, une ischémie a été induite en gonflant un brassard à >250 mmHg pendant 20 min suivi d'une période de reperfusion de 20 min. Les résultats ont démontré que l'ischémie-reperfusion diminue la fonction endothéliale alors que l'immersion en eau chaude empêche cette diminution (Brunt, Jeckell, et al., 2016). Récemment, Engelland *et al.* ont évalué l'effet protecteur de la chaleur contre une ischémie-reperfusion dans les membres inférieurs du corps (Engelland et al., 2020). Le protocole comprenait deux visites durant lesquelles des adultes en santé (âge moyen 26 ans) ont placé leurs jambes dans de l'eau chaude (~42°C) ou thermoneutre (~33°C) pendant 60 minutes. Après une période de récupération de 60 minutes, une ischémie-reperfusion a été induite en gonflant un brassard pendant 20 minutes suivi de 20 minutes de reperfusion. L'ischémie-reperfusion a réduit la fonction endothéliale après l'immersion thermoneutre, alors que la fonction endothéliale a été maintenue à la suite de l'ischémie-reperfusion après l'immersion des jambes dans l'eau chaude (Engelland et al., 2020). Sur ces études, on peut conclure que la chaleur pourrait prévenir la dysfonction endothéliale lors de l'ischémie-reperfusion d'adultes en santé. De plus, une étude suggère que l'exposition répétée à un sauna peut protéger contre le stress oxydatif, un facteur de la dysfonction endothéliale. Les niveaux urinaires de 8-épi-prostaglandine F2 $\alpha$ , marqueur du stress oxydatif, ont diminué après 2 semaines de sauna sec infrarouge lointain (60°C pendant 15 minutes/jour) chez 14 personnes ayant un facteur de risque coronarien (hypertension, hypercholestérolémie, diabète de type 2, obésité) comparé au groupe témoin exposé à une température ambiante (24°C, 45 minutes/jour) (Masuda et al., 2004).

La majorité des études citées dans cette section ont utilisé l'immersion en eau chaude ou le sauna comme modalité de chaleur afin d'étudier la tolérance au glucose ou la fonction vasculaire. La réponse physiologique globale est sensiblement la même entre

ces deux modalités, de sorte que chacune augmente les températures corporelles, la sudation, le débit sanguin cutané et la fréquence cardiaque. Néanmoins, quelques différences sont importantes à considérer. La température du sauna Finlandais est généralement maintenue entre 80 et 100°C avec une humidité entre 10 à 20%. Étant donné que les humains sont capables de dissiper la chaleur très facilement à l'air sec, la température très élevée au sauna est nécessaire pour augmenter la température interne de manière rapide. Au sauna, l'ampleur de l'augmentation de la température interne dépend de la température de l'air, de la durée d'exposition et l'emplacement de mesure de la température interne. Par exemple, il a été rapporté que la température œsophagienne peut augmenter d'environ  $\sim 1.5^{\circ}\text{C}$  au-delà des valeurs basales en seulement 10 minutes (Hannuksela & Ellahham, 2001), tandis que l'augmentation de la température rectale se situe aux environs de  $0.2^{\circ}\text{C}$  après 15 minutes à  $72^{\circ}\text{C}$  et de  $0.4^{\circ}\text{C}$  après 20 minutes à  $92^{\circ}\text{C}$  (Hannuksela & Ellahham, 2001). La température de la peau augmente rapidement jusqu'à environ  $40^{\circ}\text{C}$ , le flux sanguin augmente de 5 à 10% et le débit cardiaque de 5–6 L/minute à 9–10 L/minute (Hannuksela & Ellahham, 2001). À l'inverse, le transfert de chaleur dans l'eau est plus grand que l'air. Ceci signifie que la température de l'eau peut être considérablement plus basse, généralement maintenue entre  $38$  et  $42^{\circ}\text{C}$ , pour obtenir des augmentations similaires à celles obtenues avec le sauna Finlandais. L'ampleur de l'augmentation de la température interne dépend de la température de l'eau, la profondeur de l'immersion et la durée d'immersion. Une étude chez des femmes obèses atteintes du syndrome des ovaires polykystiques a rapporté que le temps moyen pour atteindre une température interne de  $38.5^{\circ}\text{C}$  est d'environ 25 minutes (Ely, Clayton, et al., 2019). La différence principale entre l'immersion en eau chaude et le sauna est la présence de pression hydrostatique lors de l'immersion qui facilite le retour veineux augmentant ainsi la pression de remplissage cardiaque (Arborelius et al., 1972). La pression hydrostatique a des effets indépendants sur la fonction cardiovasculaire, tels qu'une augmentation du débit cardiaque (Arborelius et al., 1972) et la compliance artérielle totale (Boussuges, 2006). L'absence de pression

hydrostatique, combinée avec une position assise, fait en sorte que la pression diminue durant le sauna alors qu'elle est maintenue pendant l'immersion en eau chaude.

En résumé, ces dernières années, une approche innovante basée sur la chaleur thérapeutique semble prometteuse pour améliorer la santé cardiométabolique. Des études cliniques et animales suggèrent que l'exposition chronique à la chaleur pourrait améliorer la sensibilité à l'insuline et la fonction endothéliale. Néanmoins, peu d'études ont évalué les adaptations physiologiques à ce stress thermique aigu dans des populations ayant des maladies cardiométaboliques. Il serait important de caractériser l'effet aigu de l'exposition à la chaleur afin de voir si les effets observés en chronique sont dus à l'accumulation d'adaptations aiguës. Donc, l'objectif de cette thèse est d'évaluer l'effet aigu de l'exposition à la chaleur sur des marqueurs de la fonction cardiométabolique au sein de populations ayant une maladie cardiométabolique.

## Chapitre 3- Méthode et résultats

### 3.1 Article de thèse #1

# Acute effect of passive heat exposure on markers of cardiometabolic function in adults with type 2 diabetes mellitus

Version finale à soumettre à la revue *Acta Physiologica*

**Parya Behzadi**<sup>1,2</sup>, Nicholas Ravanelli<sup>3</sup>, Hugo Gravel<sup>1,2</sup>, Hadiatou Barry<sup>1,2</sup>, Amélie Debray<sup>1,4</sup>, Georgia K. Chaseling<sup>1,2</sup>, Vincent Jacquemet<sup>2</sup>, Paul-Eduard Neagoe<sup>1</sup>, Anil Nigam<sup>1,4</sup>, André C. Carpentier<sup>5</sup>, Martin G. Sirois<sup>1,2</sup> and Daniel Gagnon<sup>1,6</sup>

<sup>1</sup>Montreal Heart Institute, Montréal, Canada

<sup>2</sup>Department of pharmacology and physiology, Université de Montréal, Montréal, Canada

<sup>3</sup>School of Kinesiology, Lakehead University, Thunder Bay, Canada

<sup>4</sup>Department of Medicine, Université de Montréal, Montréal, Canada

<sup>5</sup>Centre de Recherche du Centre Hospitalier Universitaire de Sherbrooke, Sherbrooke, Canada

<sup>6</sup>School of Kinesiology and Exercise Science, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montréal, Canada

### Corresponding author:

Daniel Gagnon, PhD

Centre ÉPIC, Montreal Heart Institute

5055 rue Saint-Zotique Est, Montréal, QC, Canada, H1T 1N6

Tel: +1 514-374-1480 x4205

Fax: +1 514 374-2445

[daniel.gagnon.3@umontreal.ca](mailto:daniel.gagnon.3@umontreal.ca)

## ABSTRACT

**Aim:** Heat exposure is a promising strategy to improve cardiometabolic health. This study evaluated the acute physiological responses to passive heat exposure in adults with type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Methods:** On separate and randomized days, 13 adults with T2DM (8 males/5 females,  $62 \pm 12$  years, BMI:  $30.1 \pm 4.6$  kg/m<sup>2</sup>) were immersed in thermoneutral (34°C, 90 minutes) or hot (41°C, core temperature  $\geq 38.5^\circ\text{C}$  for 60 minutes) water. Insulin sensitivity was quantified via the minimal oral model during an oral glucose tolerance test (OGTT) performed 60 minutes after immersion. Brachial artery flow-mediated dilation (FMD) and reactive hyperemia were evaluated before and 40 minutes after immersion. Blood samples were drawn to quantify protein concentrations and mRNA levels of HSP70 and 90, as well as circulating concentrations of cytokines. **Results:** Relative to thermoneutral water immersion, hot water immersion increased core temperature ( $+1.66^\circ\text{C}$  [ $+1.47$ ,  $+1.87$ ],  $P < 0.01$ ), heart rate ( $+34$  bpm [ $+24$ ,  $+44$ ],  $P < 0.01$ ), antegrade shear rate ( $+96$  s<sup>-1</sup> [ $+57$ ,  $+134$ ],  $P < 0.01$ ), and IL-6 ( $+1.46$  pg/mL [ $+0.29$ ,  $+2.62$ ],  $P = 0.02$ ). Nonetheless, hot water immersion did not exert an acute change in insulin sensitivity ( $-0.3$  dl/kg/min/ $\mu\text{U}/\text{ml}$  [ $-0.9$ ,  $+0.2$ ],  $P = 0.18$ ), FMD ( $-1.0\%$  [ $-3.6$ ,  $+1.6$ ],  $P = 0.56$ ), nor peak ( $+0.36$  mL/min/mmHg [ $-0.71$ ,  $+1.43$ ],  $P = 0.64$ ) and area under the curve ( $+0.11$  mL/min/mmHg x min [ $-0.46$ ,  $+0.68$ ],  $P = 0.87$ ) reactive hyperemia. **Conclusion:** The physiological responses elicited by hot water immersion do not acutely improve markers of cardiometabolic function in adults with T2DM.

**Keywords:** diabetes, endothelial, heat, insulin, microvascular, inflammation.

## INTRODUCTION

Type 2 diabetes Mellitus (T2DM) has become a global health issue with a prevalence of 415 million in 2015, a figure that may reach 642 million in 2040<sup>1</sup>. T2DM is a chronic disease associated with insulin resistance and impaired insulin signaling that leads to hyperglycemia<sup>1</sup>. Hyperglycemia, in turn, increases the risk of micro and

macrovascular complications; the prevalence of each being ~19% and ~13% within the T2DM population, respectively<sup>2</sup>. Glycemic control by medication is effective at reducing the risk of microvascular complications associated with T2DM<sup>3</sup>. In contrast, adults with T2DM remain at a more than 2-fold greater risk of macrovascular complications (i.e., coronary heart disease) despite optimal glycemic control by medication<sup>4</sup>. This last observation highlights the importance of complementary non-pharmacological lifestyle interventions to prevent the complications of T2DM<sup>5</sup>.

Heat exposure is receiving increasing attention for its therapeutic potential to improve metabolic and vascular health. From a metabolic perspective, clinical studies have demonstrated that heat exposure elicits both acute and chronic improvements in glucose metabolism in young healthy adults<sup>6</sup>, young women with polycystic ovary syndrome<sup>7</sup>, and middle-aged and overweight men<sup>8</sup>. These metabolic benefits of heat exposure remain understudied in adults with T2DM. A seminal study by Hooper<sup>9</sup> reported a decrease in fasting glycemia and glycosylated hemoglobin concentration in individuals with T2DM following a 3-week hot bath intervention (~40°C, 6x/week). Subsequent studies in animal models demonstrated that a heat-induced increase in intracellular heat shock protein 72 (iHSP72) inhibits the actions of pro-inflammatory proteins and leads to improved insulin sensitivity<sup>10,11</sup>. At the time of designing the current study, one study had evaluated the possibility that heat exposure may exert similar adaptations in adults with T2DM. Rivas *et al.*<sup>12</sup> did not observe any effect of a 60-minute hot water immersion on glycemia and insulin concentration during an oral glucose tolerance test (OGTT) performed 24 hours following immersion in adults with T2DM. However, it remained unknown if acute metabolic adaptations could be observed within a shorter timeframe following heat exposure.

Heat exposure also represents a potential therapeutic intervention to improve vascular health in adults with T2DM. Clinical studies have reported acute and chronic

improvements in markers of micro and/or macrovascular functions in young adults<sup>13-15</sup>, older adults<sup>16</sup>, and patients with chronic heart failure<sup>17,18</sup> or coronary artery disease<sup>19</sup> in response to various heat exposure modalities (hot water immersion, sauna). Potential mechanisms that have been proposed to mediate improvements in vascular function with heat exposure include an altered vascular shear profile (i.e., greater anterograde/lower retrograde shear) and an increase in HSP90, an essential endothelial nitric oxide synthase cofactor<sup>20-22</sup>. In adults with T2DM, one study demonstrated that forearm heating initiated 30 min after the onset of an OGTT prevented hyperglycemia-induced reductions in macrovascular function<sup>23</sup>. It remains unknown if whole-body heat exposure acutely improves macro and/or microvascular functions under basal conditions in adults with T2DM.

The objective of the current study was to perform a detailed characterization of the acute physiological responses to passive heat exposure that could lead to improved glycemic control and/or vascular function in adults with T2DM. The primary hypothesis was that hot water immersion acutely improves insulin sensitivity. The secondary hypothesis was that hot water immersion improves markers of micro and macrovascular functions. We also explored the acute changes in heat shock proteins (HSP70/90), inflammatory cytokines (IL-6, IL-1RA) and mediators of insulin action (IRS-1, GLP-1) elicited by hot water immersion.

## **MATERIAL AND METHODS**

### **Ethical approval**

This study was reviewed and approved by the Montreal Heart Institute Research Ethics and New Technology Development Committee (#2019-2507). All participants provided written informed consent prior to their participation in the study.

### **Participants**



Seventy-two participants were approached for study eligibility. Among them, sixteen participants, >45 years of age and with a diagnosis of T2DM ( $7 \pm 4$  years) were eligible to participate for the study. Three participants withdrew due to reasons unrelated to the study protocol (lack of time,  $n=1$ ; concerns related to COVID-19,  $n=2$ ). Exclusion criteria included: class 3 obesity, uncontrolled hypertension, insulin therapy and macro or microvascular complications of diabetes. Eligibility was confirmed during a preliminary visit that included detailed medical history and lifestyle questionnaires, a resting electrocardiogram (ECG) and blood pressure measurement.

### **Study design**

The study involved 2 experimental visits performed in randomized crossover fashion. During the experimental visits, an OGTT was performed 60 minutes after thermoneutral ( $34^{\circ}\text{C}$ ) or hot ( $41^{\circ}\text{C}$ ) water immersion. Measures of micro and macrovascular functions were also performed before and after immersion. Prior to the experimental visits, participants were asked to fast and refrain from alcohol, caffeine or other stimulants, intense physical activity and heat exposure for 12 hours. The participants were also asked to withhold anti-diabetic medications for 24 hours prior to each visit. The morning of each visit, participants were asked to ingest a telemetric temperature pill upon awakening and arrive to the laboratory well hydrated.

### **Study protocol**

Upon arrival to the laboratory (between 7:30 and 8:30 AM), participants provided a urine sample and were instrumented for heart rate, blood pressure, and skin blood flow measurements before lying down supine within a quiet and thermoneutral environment ( $23^{\circ}\text{C}$ ). After 10 minutes of supine rest, brachial artery FMD was measured and a venous blood sample was taken. Afterwards, participants weighed themselves nude and dressed into a bathing suit before sitting in the upright position for  $\geq 5$  minutes to obtain pre-immersion measurements of heart rate, blood pressure and body temperatures. The

participants then entered a water bath (S-110-M, Whitehall Manufacturing) and were immersed to the neck. The water was circulated and temperature-controlled via an external unit (Compact dual temp, iCool). During hot water immersion, participants remained immersed to the neck until core temperature reached 38.0°C (~30 minutes) after which they sat on a bench that was placed within the bath such that water was at waist-level. This allowed core temperature to attain and stabilize at  $\geq 38.5^{\circ}\text{C}$  for an additional 60 minutes. During thermoneutral water immersion, the participants were first immersed up to the neck for 30 minutes, followed by an additional 60 minutes with water at waist-level. Within the last 10 minutes of each immersion, brachial artery diameter and velocity were measured and a blood sample was drawn. During both water immersions, participants could drink water *ad libitum*. At the end of the immersion period, the participants exited the bath, weighed themselves nude, and were provided with water to offset any fluid loss not replaced by *ad libitum* drinking before lying down supine. Approximately 40 minutes ( $38 \pm 5$  min) after exiting the water bath, brachial artery FMD was measured. At 60 minutes after exiting the water bath, participants consumed 75 g of glucose dissolved in 300 mL of water (Glucodex, Rougier Pharme). Blood samples were drawn through a venous catheter 10 minutes before and immediately before glucose consumption, as well as every 20 minutes during a subsequent 180-minute period.

## Measurements

Body height was measured with a stadiometer (model 216, Seca) and body mass with a digital scale (IND236, Mettler-Toledo, precision: 0.01 kg). Urine specific gravity was measured with a digital refractometer (PAL-10S, Atago). Heart rate was measured from lead II of a 5-lead ECG (Solar i8000, GE Healthcare) outside of the bath or with a finger pulse oximeter within the bath (P30, Beurer). Brachial artery blood pressures were measured by ECG-gated auscultation outside of the bath (Tango M2, SunTech Medical) or by oscillometric auscultation within the bath (CT-40, SunTech Medical). Core temperature was measured with an ingestible telemetric pill (CorTemp, HQ Inc). Skin

temperatures were measured with wireless sensors (iButtons, Embedded Data Systems) taped onto the chest, shoulder, thigh and calf.

Brachial artery FMD was measured according to expert guidelines<sup>45</sup>. Brachial artery diameter and blood velocity were recorded simultaneously by high-resolution Doppler ultrasound (uSmart3300, Terason). The ultrasound probe was placed 5-15 cm proximal to the antecubital fossa, where an optimal B-mode image could be obtained. Brachial artery diameter and blood velocity were recorded for 1-minute following which a rapid inflation/deflation pneumatic cuff (SC5, Hokanson), placed immediately distal to the antecubital fossa, was inflated to 250 mmHg for 5 minutes. Diameter and velocity were measured continuously during occlusion and continued for 3 minutes after cuff deflation. During the brachial FMD measurements, a laser-Doppler probe (VP7A/T, Moor Instruments) was fixed onto the ventral side of the forearm, distal to the pneumatic cuff, to quantify skin microvascular reactivity. The location of the ultrasound and laser-Doppler probes was identified with a surgical marker following pre-immersion measurements to standardize measurement site following water immersion.

Venous blood samples were collected in vacutainers with separator gel (K2EDTA, Greiner Bio-One) and centrifuged (1500 g, 10 minutes, 4°C). The plasma layer was aliquoted and stored at -80°C until batch analyses. Plasma was used to determine circulating concentrations of interleukin-1 receptor antagonist (IL-1RA), interleukin-6 (IL-6), glucagon-like peptide-1 (GLP-1), eHSP70 and eHSP90 with Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) kits (Thermo Fisher Scientific). Kit sensitivities were: 4 pg/mL for IL1-RA, 0.03 pg/mL for IL-6, 0.03 ng/mL for HSP90, 0.052 ng/mL for HSP70 and 150 pg/mL for GLP-1. The coefficient of variation 7.7% for eHSP70, 8.8% for eHSP90 was 8.8%, 5.1% for IL-1RA, 3.8% for GLP-1, and 5.6% for IL-6.

The remaining layer (red and white blood cells, platelets) was aliquoted and diluted 1:1 with Hanks' Balanced Salt Solution (HBSS). The diluted blood was slowly layered over Ficoll-Paque gradient and centrifuged at 400 g for 30 minutes. The peripheral blood mononuclear cells (PBMC) layer was separated, diluted 3:1 with HBSS, and centrifuged (400 g, 10 minutes, room temperature). The supernatant was discarded and a repeated wash with HBSS was performed. The supernatant was discarded and the white cell pellet was resuspended with 1 mL of HBSS. Cell concentration and viability were determined by a manual counting method. Lysis buffer (1% Triton in HBSS; 100  $\mu$ L /  $10^6$  cells) was added, cells were briefly vortexed (30 sec.) and centrifuged (14000 g, 10 minutes, 4°C). The cell membrane pellet was discarded and cell lysate was rapidly frozen at -80°C. PBMC intracellular concentrations of total and phosphorylated nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF $\kappa$ B), insulin receptor substrate 1 (IRS-1), iHSP70 and iHSP90 were measured with ELISA kits (Thermo Fisher Scientific). Absolute values iHSP70 and iHSP90 were normalized per mg of total protein via the Bradford method (Bio-Rad, Richmond, USA)<sup>47</sup>. The coefficient of variation was 8.1% for iHSP70, 3.8% for iHSP90, and 5.7% for NF $\kappa$ B. Concentrations of IRS-1 were below the detectable threshold before and after water immersion. Total RNA was also extracted from PBMCs using TRIzol reagent (Invitrogen). The integrity of total RNA was confirmed by agarose gel electrophoresis and the quantity and purity were determined by measuring the absorbance at 260 nm/280 nm using a NanoDrop spectrophotometer (Thermo Scientific Inc.). 1000 ng of RNA samples were reversibly transcribed to cDNA using a High-capacity cDNA reverse transcription kit (Applied Biosystems) following the manufacturers' protocol. The reaction mixture was stored at -20°C. The expression of HSP70 and HSP90 mRNA levels was determined using SYBR Green SuperMix-UDG (Invitrogen) and MX3000p real-time thermal cycler (Agilent). Gene expression was determined from qPCR duplicates and normalized to hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase (HPRT) as the housekeeping gene. The oligonucleotide primer sets are shown in Table 4. Thermal

cycling parameters were 50°C for 2 min, 95°C for 10 min, followed by 40 cycles of 95°C for 15 s, 55°C for 30 s and 72°C for 30 s.

Venous blood samples were also collected in vacutainers with separator gel (glucose: K3EDTA, Greiner Bio-One; insulin: heparin, Greiner Bio-One) for plasma glucose and insulin analyses at the Biochemistry Laboratory of the Montreal Heart Institute. Glucose was measured using reagent Flex on the multianalyzer Vista 500 (Siemens Healthcare Diagnostics Inc, Newark, DE, USA). Insulin was measured by electrochemiluminescence immunoassay using the Roche assay (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) on the Cobas e411 analyzer (Roche Diagnostics).

### **Data analyses**

Baseline brachial artery diameter was defined as the average diameter during the 1-minute pre-occlusion recording. Peak brachial artery diameter was defined as the maximal 1-second average during the post-occlusion period. FMD was determined as the percentage change in brachial artery diameter from baseline to peak. Shear rate ( $4 \times$  mean blood velocity/diameter) area-under-the-curve (AUC) up to peak diameter was considered the stimulus for FMD. Baseline diameter was used as a covariate for FMD comparisons, based on an allometric scaling approach<sup>47</sup>. Antegrade and retrograde shear rates were calculated using positive and negative mean blood velocity, respectively. Systolic and diastolic blood pressures were used to calculate mean arterial pressure (diastolic pressure + 1/3 pulse pressure). Forearm blood flow was calculated from mean blood velocity and vessel cross-sectional area. Forearm and cutaneous vascular conductance were calculated (flow or flux  $\div$  mean arterial pressure) to quantify forearm and skin microvascular reactivity, respectively, as peak and AUC during the 3-minute post-occlusion period. Skin temperatures were used to calculate mean skin temperature<sup>48</sup>. Sweat loss was calculated as the change in nude body weight corrected for fluid intake and/or urine output. Glucose dynamics during the OGTT were described by the oral

minimal model equations<sup>49</sup>. The fixed parameters of the model were the volume distribution ( $V = 1.7 \text{ dL/kg}$ ), the fraction of the ingested dose that was absorbed ( $f = 0.86$ ), the fractional glucose effectiveness ( $p1 = 0.007 \text{ min}^{-1}$ ), and the asymptotic exponential decay factor ( $\alpha = 0.017 \text{ min}^{-1}$ ). These values were taken from Dalla Man et al.<sup>49</sup> except  $p1$  that was reduced to globally improve goodness-of-fit in our sample. The ingested glucose dose relative to body weight ( $D$  in  $\text{mg/kg}$ ) was adjusted to each participant. This left three parameters ( $p2$ ,  $p3$ , and  $\beta$ ) to be fitted to glucose measurements. To calculate the insulin sensitivity index, the differential equations were solved using a backward Euler scheme with a time step of 0.01-minute. Parameter fitting was performed by minimizing mean square error with respect to measured glucose data. The code was implemented in python based on `scipy.optimize.curve_fit`. That function also outputs the covariance matrix from which an estimate of the uncertainty on the parameters was derived. The insulin sensitivity index<sup>51</sup> was then defined as  $SI = p3/p2$ . Due to difficulties with maintaining catheter patency ( $n=3$ ) or insulin values not returning to baseline values ( $n=1$ ), curve fitting to quantify insulin sensitivity was performed on 9 participants. Insulin sensitivity was also quantified with other validated models<sup>51</sup>. Relative levels of mRNA gene expression were calculated using the  $2^{-\Delta\Delta Cq}$  method.

### **Statistical analyses**

The sample size was estimated *a priori* based on a previous study that reported an improved insulin sensitivity during an OGTT performed 60 minutes after a 60-minute aerobic exercise period<sup>44</sup>. Specifically, insulin sensitivity quantified by the oral glucose minimal model was  $24 \pm 13 \text{ dl/kg/min}/\mu\text{U/ml}$  after exercise compared with  $15 \pm 9 \text{ dl/kg/min}/\mu\text{U/ml}$  without prior exercise in 18 pre-diabetic individuals. Assuming a  $9 \pm 13 \text{ dl/kg/min}/\mu\text{U/ml}$  difference in insulin sensitivity between thermoneutral and hot water immersion, a sample size of 19 participants would provide 80% power to detect this difference with a two-tailed paired sample t-test at the 0.05 level. A two-way repeated measures ANOVA with the factors of intervention (thermoneutral, hot) and time (pre-

immersion, during immersion) was used to determine the effect of water temperature on the dependent variables during immersion. A two-way ANOVA with the repeated factors of intervention (thermoneutral, hot) and time (pre-OGTT, during OGTT) was used to determine if water temperature modulated the dependent variables during the oral glucose challenge. A Greenhouse-Geisser's adjustment was used for both analyses. When a significant main effect or interaction was observed, post-hoc comparisons were performed using Sidak's adjustment. Plasma glucose and insulin AUC, as well as insulin sensitivity were also compared between conditions using paired t-tests. To account for potential baseline diameter variations between FMD measurements, FMD was compared between conditions using a linear mixed model with baseline diameter and shear rate AUC to peak diameter as covariates<sup>47</sup>. The covariance structure was selected to minimize Akaike's criterion. For all analyses, the critical P value was set at <0.05. Statistical analyses were performed with commercial software (IBM SPSS v.24 and GraphPad Prism 8.0.1). Data are reported as mean  $\pm$  standard deviation and differences between conditions are presented as mean with 95% confidence interval.

## RESULTS

Participant characteristics are reported in Table 1. All participants completed the thermoneutral (34°C) and hot (41°C) water immersions without any serious adverse events. Some participants reported nausea (N=1) or dizziness (N=3) during hot water immersion.

### *Physiological responses during water immersion*

Thermoregulatory and hemodynamic variables during water immersion are depicted in Figure 1. Compared to thermoneutral immersion, hot water immersion increased mean skin temperature (+3.70°C [+2.37, +5.03],  $P<0.01$ ), core temperature (+1.67°C [+1.47, +1.87],  $P<0.01$ ) and heart rate (+34 bpm [+24, +44],  $P<0.01$ ). The change in systolic (interaction,  $P=0.51$ ) and diastolic (interaction,  $P=0.45$ ) blood pressures

did not differ between conditions. Whole-body sweat rate was  $0.04 \pm 0.07$  L/h during thermoneutral water immersion and  $0.69 \pm 0.33$  L/h during hot water immersion ( $P < 0.01$ ). The relative change in body mass was  $-0.03 \pm 0.18\%$  after thermoneutral water immersion and  $-0.29 \pm 0.75\%$  after hot water immersion ( $P = 0.40$ ).

Brachial artery shear rate and blood flow are presented in Figure 2. Compared to thermoneutral water immersion, hot water immersion increased forearm blood flow ( $+159$  min/mL [ $+30, +288$ ],  $P = 0.02$ ), forearm vascular conductance ( $+1.99$  ml/min/mmHg [ $+0.37, +3.61$ ],  $P = 0.02$ ), mean ( $+104$  s<sup>-1</sup> [ $+64, +144$ ],  $P < 0.01$ ) and antegrade ( $+96$  s<sup>-1</sup> [ $+57, +134$ ],  $P < 0.01$ ) shear rates. Retrograde shear rate became greater during thermoneutral water immersion whereas hot water immersion prevented this effect (interaction,  $P = 0.03$ ).

Extracellular and intracellular concentrations of HSP70 and 90 are presented in Figure 3. Extracellular concentrations of HSP70 (main effect of time,  $P = 0.54$ , interaction,  $P = 0.58$ ) and HSP90 (main effect of time,  $P = 0.38$ ; interaction,  $P = 0.76$ ), as well as intracellular concentrations of HSP70 (main effect of time,  $P = 0.86$ ; interaction,  $P = 0.06$ ) and HSP90 (main effect of time,  $P = 0.11$ ; interaction,  $P = 0.51$ ) were unaffected by water immersion. The fold change in HSP70 and HSP90 mRNA levels is presented in Figure 4. mRNA levels of HSP70 (interaction,  $P = 0.06$ ) but not HSP90 (interaction,  $P = 0.25$ ) tended to increase during hot water immersion but not thermoneutral immersion.

Circulating concentrations of IL-6, IL1-RA, and GLP-1, as well as intracellular concentrations of NF $\kappa$ B, are presented in Figure 5. Compared to thermoneutral water immersion, hot water immersion increased IL-6 ( $+1.46$  pg/mL [ $+0.29, +2.62$ ],  $P = 0.02$ ). Water immersion did not affect IL1-RA (main effect of time,  $P = 0.63$ ; interaction,  $P = 0.13$ ), GLP-1 (main effect of time,  $P = 0.79$ , interaction,  $P = 0.68$ ), and NF $\kappa$ B (main effect of time,  $P = 0.19$ , interaction,  $P = 0.56$ ).



Plasma concentrations of glucose and insulin are presented in Figure 6. Plasma glucose decreased during thermoneutral water immersion (-0.6 mmol/L [-1.0, -0.3],  $P < 0.01$ ), whereas it remained stable during hot water immersion (interaction,  $P < 0.01$ ). Plasma insulin was unaffected by water immersion (main effect of time,  $P = 0.10$ , interaction,  $P = 0.29$ ).

#### *Glucose tolerance after water immersion*

Prior to the OGTT, core temperature (+0.57°C [+0.22, +0.93],  $P < 0.01$ ) and heart rate (+10 bpm [+4, +15],  $P < 0.01$ ) were greater after hot water immersion relative to thermoneutral water immersion. Concentrations of eHSP70 ( $P = 0.04$ ) were lower following hot water immersion. Mean skin temperature ( $P = 0.07$ ), systolic ( $P = 0.90$ ) and diastolic ( $P = 0.42$ ) blood pressures, iHSP70 ( $P = 0.95$ ), eHSP90 ( $P = 0.39$ ), iHSP90 ( $P = 0.39$ ), HSP70 mRNA ( $P = 0.97$ ), HSP90 mRNA ( $P = 0.76$ ), IL1-RA ( $P = 0.91$ ), IL-6 ( $P = 0.57$ ), GLP-1 ( $P = 0.57$ ), and NF $\kappa$ B ( $P = 0.50$ ) did not differ between conditions. Plasma glucose (+1.30 mmol/mL [+0.52, +2.08],  $P < 0.01$ ) and insulin (+46.47 pmol/L [+26.37, +66.58],  $P < 0.01$ ) concentrations were greater prior to the OGTT following hot water immersion relative to thermoneutral water immersion. Changes in plasma glucose (interaction  $P = 0.21$ ) and insulin (interaction,  $P = 0.16$ ) and concentrations during the OGTT were not different between conditions (Figure 6). Consequently, glucose ( $P = 0.98$ ) and insulin ( $P = 0.33$ ) AUC during the OGTT were not different between conditions (Figure 6). Insulin sensitivity (Table 2) quantified with the oral minimal model ( $P = 0.18$ ) did not differ between conditions. Insulin sensitivity also did not differ between conditions when quantified with the Stumvoll metabolic clearance rate ( $P = 0.80$ ), Stumvoll insulin sensitivity index ( $P = 0.45$ ), Gutt ( $P = 0.06$ ), Belfiore ( $P = 0.14$ ), and Cederholm ( $P = 0.08$ ) models. In contrast, insulin sensitivity was lower following hot water immersion when quantified with the oral glucose insulin sensitivity ( $P = 0.02$ ), and Matsuda ( $P = 0.02$ ) models. The concentration of iHSP90 increased during the OGTT following hot water immersion whereas it remained stable following thermoneutral immersion (interaction,  $P = 0.03$ ). The change in eHSP70, iHSP70,

eHSP90, HSP70 mRNA, HSP90 mRNA, IL1-RA, IL-6, GLP-1, and NF $\kappa$ B during the OGTT did not differ between conditions (interactions, all  $P \geq 0.08$ ).

#### *Effect of water immersion on markers of vascular function*

Physiological variables at the time of brachial artery FMD measurements are reported in Table 3. Prior to the post immersion FMD measurement, forearm vascular conductance ( $P=0.02$ ), forearm blood flow ( $P=0.01$ ), antegrade and mean shear rates ( $P<0.01$ ), CVC ( $P<0.01$ ), core ( $P<0.01$ ) and mean skin temperatures ( $P<0.01$ ), and heart rate ( $P<0.01$ ) were greater following hot water immersion. In contrast, systolic ( $P=0.56$ ) and diastolic ( $P=0.09$ ) blood pressures were not different between conditions. There was no effect of immersion on unadjusted (main effect of time  $P=0.43$ ; interaction  $P=0.38$ ) and scaled (main effect of time  $P=0.60$ ; interaction  $P=0.54$ ) FMD values (Table 3). There was also no effect of immersion on peak (main effect of time  $P=0.28$ ; interaction  $P=0.84$ ) and AUC (main effect of time  $P=0.33$ ; interaction  $P=0.57$ ) forearm vascular conductance during reactive hyperemia (Table 3). Peak cutaneous vascular conductance (interaction  $P=0.03$ ) during reactive hyperemia was greater after hot water immersion. However, this reflected greater pre-occlusion values (interaction,  $P<0.01$ ) following hot water immersion as there was no effect of immersion on cutaneous vascular conductance AUC (main effect of time  $P=0.27$ ; interaction  $P=0.30$ , Table 3).

## **DISCUSSION**

This study examined the acute effect of hot water immersion on markers of cardiometabolic function in adults with T2DM. Contrary to our hypotheses, 90 minutes of hot water immersion did not improve insulin sensitivity during an OGTT performed 60 minutes after immersion. Hot water immersion also did not improve markers of micro and macrovascular functions. The lack of improvement in these markers of cardiometabolic function occurred despite substantial increases in body temperatures, heart rate, blood flow and shear rate. These results demonstrate that the physiological responses elicited

by hot water immersion do not lead to an acute improvement in markers of cardiometabolic function in adults with T2DM.

Accumulating, albeit still limited evidence supports the contention that repeated heat exposure improves glycemic control in various populations<sup>6-9</sup>. Animal models have provided biological plausibility for this contention. Notably, studies showed that once weekly heat exposure for 12 to 16 weeks prevents insulin resistance induced by a high fat diet in mice<sup>10</sup> and rats<sup>24</sup>. Furthermore, these studies revealed an obligatory role of HSP72 in mediating these responses. In contrast to these longer-term adaptations, it remains less clear whether heat exposure can elicit acute benefits for glycemic control. Acute adaptations are worthy of investigation since they provide insight into the time-course of physiological adaptations and can eventually help inform prescription. As an example, glycemic control is improved within 30 minutes following exercise and can persist for up to 48 hours, prompting recommendations that adults with T2DM should accumulate as many bouts of exercise as possible throughout the day and should not allow more than 48 hours between structured exercise sessions<sup>25,26</sup>. In the current study, we did not observe an improvement in fasting glycemia nor in insulin sensitivity during an OGTT performed 1 hour after heat exposure. These observations extend the only investigation in adults with T2DM that was available at the time of designing the current study. This previous study observed an unchanged glycemia during an OGTT performed 24 hours after 60 minutes of hot water immersion<sup>12</sup>. The current findings also confirm a recently published study demonstrating that 60 minutes of hot water immersion does not improve glycemia during an OGTT performed 30 minutes after heating in adults with T2DM<sup>27</sup>. It should be noted that previous studies have also observed greater glycemia when an oral glucose challenge is performed 1 hour following 60 minutes of hot water immersion in young healthy adults<sup>28,29</sup>. To date, the study by Faulkner et al.<sup>30</sup> is the only one to provide some evidence that heat exposure may acutely improve glycemic control. Specifically, they observed a small (~0.5 mmol/L) reduction in peak glucose concentration when a meal

was preceded by 60 minutes of hot water immersion relative to when it was preceded by 60 minutes of aerobic exercise. However, the lack of a control condition limits the interpretation of this observation. Taken together, the current results add to a growing body of evidence suggesting that heat exposure, specifically 60 to 90 minutes of hot water immersion, does not improve glycemic control within 30 to 60 minutes and up to 24 hours following heat exposure.

It has been hypothesized that long-term adaptations in glycemic control elicited by repeated heat exposure may stem from acute improvements in skeletal muscle glucose uptake<sup>31</sup>. Potential physiological adaptations that could mediate such a response include a hyperthermia-induced increase in HSP protein concentration that would improve insulin sensitivity, greater skeletal muscle blood flow that would facilitate glucose delivery and/or greater glucose uptake due to translocation of skeletal muscle glucose transporters. The current findings suggest that hot water immersion is unlikely to elicit these acute physiological adaptations in adults with T2DM. First, we did not observe an acute increase in circulating and intracellular HSP70 concentration during and following hot water immersion. Furthermore, we did not observe a consistent increase in HSP70 mRNA during and following hot water immersion. The acute effect of passive heat exposure on HSP70 is inconsistent in humans. During and following 60 to 120 minutes of hot water immersion, some studies observed greater concentrations of eHSP70 in healthy young adults<sup>30</sup> and individuals with T2DM<sup>27</sup> whereas other studies did not observe any changes in eHSP72 or iHSP72 concentration in healthy young adults<sup>6,32</sup>. Furthermore, no change in skeletal muscle content of HSP70 was observed 48 hours following leg immersion in hot water in young healthy adults<sup>33</sup>. In contrast, animal models consistently report an increase in skeletal muscle HSP70 content that is noticeable 8 hours following an acute heat treatment<sup>10</sup>. An important caveat with animal models is that the degree of hyperthermia attained during heat treatment (core temperature of 41-41.5°C) greatly exceeds the one attained in clinical studies and, most importantly, the level that is safe and tolerable for

humans. Nonetheless, we cannot rule out the possibility that greater levels of hyperthermia may elicit an acute increase in HSP70 concentration in adults with T2DM. Alternatively, it is also possible that the heat shock response to heat exposure is blunted in adults with T2DM. A lower skeletal muscle HSP70 content is observed in adults with T2DM<sup>34,10</sup> and the acute increase in HSP70 content that occurs following heat treatment is abolished in mice fed a high fat diet<sup>10</sup>. Such observations raise the possibility that a given heating stimulus may not be as effective in eliciting a heat shock response in adults with T2DM. Future studies are needed to investigate this possibility.

Second, brachial artery blood flow increased ~4-fold during hot water immersion and remained elevated 60 minutes following immersion. However, this greater blood flow likely reflects the increase in cutaneous blood flow that accompanies heat exposure, rather than an increase in skeletal muscle blood flow. Indeed, cutaneous vascular conductance remained elevated 60 minutes following hot water immersion. It is important to consider that passive heat exposure only increases skeletal muscle blood flow when the limbs are directly exposed to the heating stimulus<sup>35</sup>. Although the lower limbs were immersed in hot water, the increase in skeletal muscle blood flow that occurs during whole-body heating is relatively small (~1 mL/100 g of tissue/min) in limbs directly exposed to the heating stimulus<sup>35</sup>. It is therefore unlikely that heat exposure sufficiently elevates skeletal muscle blood flow to facilitate glucose uptake by skeletal muscle. Beyond HSPs and skeletal muscle blood flow, it has also been suggested that an increase in the circulating concentration of IL-6 may contribute to improving glycemic control by stimulating the release of anti-inflammatory cytokines such as IL-1RA<sup>36</sup>. In the current study, the circulating concentration of IL-6 was elevated at the end of hot water immersion but this increase was transient as values were not significantly greater relative to thermoneutral immersion prior to and during the OGTT. Regardless, this transient increase in IL-6 was not accompanied by an increase in IL1-RA. It is also noteworthy that

hot water immersion did not affect other markers of inflammation (NF $\kappa$ B) or mediators of insulin action (GLP-1, IRS-1).

Passive heat exposure also represents an interesting strategy to improve markers of micro and macrovascular health<sup>37</sup>. The acute effect of heat exposure on such markers is variable, with some studies observing improvements in flow-mediated dilation and/or post-occlusive reactive hyperemia<sup>19,22,38</sup> whereas other studies did not observe any effect of heat exposure on these variables<sup>39-41</sup>. One explanation for these divergent findings could be related to initial vascular function, such that acute improvements may be more noticeable in individuals with *a priori* vascular dysfunction. For example, 45 minutes of lower limb heating improves femoral artery FMD and post-occlusive reactive hyperemia in healthy older, but not young adults<sup>38</sup>. Similarly, a single Finnish sauna bath improves brachial artery FMD in older adults with stable coronary artery disease<sup>19</sup> but not in age-matched healthy adults<sup>39</sup>. This possibility led us to hypothesize that acute improvements in micro and macrovascular functions would be observed following heat exposure in adults with T2DM, a condition associated with vascular dysfunction<sup>42</sup>. In contrast to this hypothesis, hot water immersion did not improve brachial artery FMD nor forearm and cutaneous vascular conductance during post-occlusive reactive hyperemia. When observed, an acute improvement in vascular function following heat exposure has been primarily attributed to greater levels of antegrade shear rate<sup>22</sup> and possibly HSP90<sup>38</sup> concentration. In the current study, antegrade shear rate increased ~2-fold during hot water immersion and remained elevated prior to the post-immersion FMD measurement. Nonetheless, it is possible that this increase is blunted relative to what would occur in healthy individuals making it insufficient to acutely improve vascular function. A previous study observed that the change in forearm blood flow during forearm heating is less pronounced in individuals with T2DM compared to age-matched controls<sup>23</sup>, an observation that is likely attributable to reduced cutaneous vasodilation<sup>52</sup>. We also did not observe a change in mRNA and protein concentrations of HSP90 in response to hot water

immersion. Taken together, the current results demonstrate that despite a considerable increase in antegrade shear rate, 90 minutes of hot water immersion does not acutely improve markers of micro and macrovascular functions in adults with T2DM.

When interpreting the current results, the following limitations should be considered. First, hot water immersion maintained glycemia at elevated levels compared to thermoneutral water immersion. Although this may reflect greater glucose release relative to glucose uptake during hot water immersion, previous studies have demonstrated that heat exposure arterializes venous blood samples due to an increase in blood flow<sup>43</sup>. Second, we did not directly evaluate insulin sensitivity, but rather estimated it with models that have been validated against the gold-standard hyperinsulinemic clamp. Third, the participants did not present with serious complications related to diabetes and their glycemia was relatively well controlled. Fourth, HSP protein concentrations and mRNA levels were quantified in plasma and intracellularly within PBMCs rather than within skeletal muscle, the largest organ responsible for glucose uptake. Fifth, micro and macrovascular functions were only measured on the forearm and measurements were performed ~40 minutes after water immersion. We cannot rule out the possibility that hot water immersion may improve vascular function within other arteries (e.g. femoral, popliteal) or that acute changes may be observed if measurements are performed sooner or later following heat exposure. Sixth, we did not reach our *a priori* estimated sample size. However, it is unlikely that the lack of difference in our primary study outcomes is due to insufficient statistical power. For example, we had estimated that hot water immersion would improve insulin sensitivity by  $9 \pm 13$  dl/kg/min/ $\mu$ U/ml ( $d = 0.69$ ). The actual effect of hot water immersion was  $-0.3 \pm 0.7$  dl/kg/min/ $\mu$ U/ml ( $d = 0.4$ ). For this effect to be significant ( $\beta=0.8$ ,  $\alpha=0.05$ ), a sample size of 52 would be required albeit it seems unlikely that such an effect would be physiologically meaningful. Lastly, we did not include an age-matched healthy control group to determine if the acute physiological responses to hot water immersion are blunted in adults with T2DM.

## **CONCLUSION**

This study demonstrates that 90 minutes of hot water immersion does not acutely improve insulin sensitivity during an oral glucose tolerance test, nor does it improve markers of micro and macrovascular functions in adults with T2DM. Furthermore, the study demonstrates that hot water immersion does not increase mRNA levels and protein concentrations of HSP70 and HSP90 within this population. Future studies are needed to determine if repeated heat exposures improve markers of cardiometabolic health in adults with T2DM.

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

The authors thank all the participants who volunteered for the study, members of the Human Integrative Physiology Laboratory that assisted with data collection, the medical personnel of the Cardiovascular Prevention and Rehabilitation Centre for their contributions to the study, and Annie Demers for her help with mRNA analyses.

## **AUTHOR CONTRIBUTIONS**

P.B., A.C.C., A.N., M.G.S., and D.G. contributed to study conception and design. P.B., N.R., H.G., H.B., A.D., G.K.C., P.E.N. contributed to data acquisition and analysis. All authors contributed to data interpretation. P.B. and D.G. drafted the manuscript and all authors revised it for important intellectual content. All authors have approved the final version of the manuscript and agree to be accountable for all aspects of the work.

## **GRANTS**

This research was supported by the Cardiometabolic Health, Diabetes and Obesity Research Network, *Diabète Québec*, and the Canada Foundation for Innovation.

## **DISCLOSURES**

None.



## REFERENCES

1. Zheng Y, Ley SH, Hu FB. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nat Rev Endocrinol*. 2018;14(2):88-98.
2. Kosiborod M, Gomes MB, Nicolucci A, et al. Vascular complications in patients with type 2 diabetes: prevalence and associated factors in 38 countries (the DISCOVER study program). *Cardiovasc Diabetol*. 2018;17(1):150.
3. Chatterjee S, Khunti K, Davies MJ. Type 2 diabetes. *Lancet*. 2017;389(10085):2239-2251.
4. Sarwar N, Gao P, Seshasai SR, et al. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *Lancet*. 2010;375(9733):2215-2222.
5. Reduction in the Incidence of Type 2 Diabetes with Lifestyle Intervention or Metformin. *N Engl J Med*. 2002;346(6):393-403.
6. Hoekstra SP, Bishop NC, Faulkner SH, Bailey SJ, Leicht CA. Acute and chronic effects of hot water immersion on inflammation and metabolism in sedentary, overweight adults. *J Appl Physiol*. 2018;125(6):2008-2018.
7. Ely BR, Clayton ZS, McCurdy CE, et al. Heat therapy improves glucose tolerance and adipose tissue insulin signaling in polycystic ovary syndrome. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2019;317(1):E172-E182.
8. Pallubinsky H, Phielix E, Dautzenberg B, et al. Passive exposure to heat improves glucose metabolism in overweight humans. *Acta Physiol*. 2020;229(4):e13488.
9. Hooper PL. Hot-Tub Therapy for Type 2 Diabetes Mellitus. *N Engl J Med*. 1999;341(12):924-925.
10. Chung J, Nguyen AK, Henstridge DC, et al. HSP72 protects against obesity-induced insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(5):1739-1744.
11. Gupte AA, Bomhoff GL, Touchberry CD, Geiger PC. Acute heat treatment improves insulin-stimulated glucose uptake in aged skeletal muscle. *J Appl Physiol*. 2011;110(2):451-457.

12. Rivas E, Newmire D, Crandall C, Hooper P, Ben-Ezra V. An acute bout of whole-body passive hyperthermia increases plasma leptin, but does not alter glucose or insulin responses in obese type 2 diabetics and healthy adults. *J Therm Biol.* 2016;59:26-33.
13. Brunt VE, Howard MJ, Francisco MA, Ely BR, Minson CT. Passive heat therapy improves endothelial function, arterial stiffness and blood pressure in sedentary humans. *J Physiol.* 2016;594(18):5329-5342.
14. Naylor LH, Carter H, FitzSimons MG, Cable NT, Thijssen DH, Green DJ. Repeated increases in blood flow, independent of exercise, enhance conduit artery vasodilator function in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2011;300(2):H664-669.
15. Carter HH, Spence AL, Atkinson CL, Pugh CJA, Naylor LH, Green DJ. Repeated core temperature elevation induces conduit artery adaptation in humans. *Eur J Appl Physiol.* 2014;114(4):859-865.
16. Imamura M, Biro S, Kihara T, et al. Repeated thermal therapy improves impaired vascular endothelial function in patients with coronary risk factors. *J Am Coll Cardiol.* 2001;38(4):1083-1088.
17. Kihara T, Biro S, Imamura M, et al. Repeated sauna treatment improves vascular endothelial and cardiac function in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39(5):754-759.
18. Ohori T, Nozawa T, Ihori H, et al. Effect of repeated sauna treatment on exercise tolerance and endothelial function in patients with chronic heart failure. *Am J Cardiol.* 2012;109(1):100-104.
19. Gravel H, Behzadi P, Cardinal S, et al. Acute Vascular Benefits of Finnish Sauna Bathing in Patients With Stable Coronary Artery Disease. *Can J Cardiol.* 2021; 37(3):493-499.
20. Kuhlenhoelter AM, Kim K, Neff D, et al. Heat therapy promotes the expression of angiogenic regulators in human skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2016;311(2):R377-R391.

21. Thomas KN, van Rij AM, Lucas SJ, Cotter JD. Lower-limb hot-water immersion acutely induces beneficial hemodynamic and cardiovascular responses in peripheral arterial disease and healthy, elderly controls. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2017;312(3):R281-R291.
22. Tinken TM, Thijssen DH, Hopkins N, et al. Impact of shear rate modulation on vascular function in humans. *Hypertension*. 2009;54(2):278-285.
23. Greyling A, Schreuder TH, Landman T, et al. Elevation in blood flow and shear rate prevents hyperglycemia-induced endothelial dysfunction in healthy subjects and those with type 2 diabetes. *J Appl Physiol*. 2015;118(5):579-585.
24. Gupte AA, Bomhoff GL, Swerdlow RH, Geiger PC. Heat treatment improves glucose tolerance and prevents skeletal muscle insulin resistance in rats fed a high-fat diet. *Diabetes*. 2009;58(3):567-578.
25. Colberg SR, Sigal RJ, Yardley JE, et al. Physical Activity/Exercise and Diabetes: A Position Statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 2016;39(11):2065-2079.
26. Sigal RJ, Armstrong MJ, Bacon SL, et al. Physical Activity and Diabetes. *Can J Diabetes*. 2018;42(1):S54-S63.
27. Thomas JJ, Corbett J, Cummings M, et al. Acute passive heating on glucose tolerance and blood pressure in people with type2diabetes: A randomized, balanced crossover, control trial. *J Appl Physiol*. 2021;130(4):1093-1105.
28. Leicht CA, James LJ, Briscoe JHB, Hoekstra SP. Hot water immersion acutely increases postprandial glucose concentrations. *Physiol Rep*. 2019;7(20):e14223.
29. Hoekstra SP, Ogawa T, Dos Santos M, et al. The effects of local versus systemic passive heating on the acute inflammatory, vascular and glycaemic response. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2021;46(7):808-818.
30. Faulkner SH, Jackson S, Fatania G, Leicht CA. The effect of passive heating on heat shock protein 70 and interleukin-6: A possible treatment tool for metabolic diseases? *Temperature*. 2017;4(3):292-304.

31. Kim K, Monroe JC, Gavin TP, Roseguini BT. Skeletal muscle adaptations to heat therapy. *J Appl Physiol*. 2020;128(6):1635-1642.
32. Whitham M, Laing SJ, Jackson A, Maassen N, Walsh NP. Effect of exercise with and without a thermal clamp on the plasma heat shock protein 72 response. *J Appl Physiol*. 2007;103(4):1251-1256.
33. Morton JP, Maclaren DP, Cable NT, et al. Elevated core and muscle temperature to levels comparable to exercise do not increase heat shock protein content of skeletal muscle of physically active men. *Acta Physiol*. 2007;190(4):319-327.
34. Bruce CR, Carey AL, Hawley JA, Febbraio MA. Intramuscular heat shock protein 72 and heme oxygenase-1 mRNA are reduced in patients with type 2 diabetes: evidence that insulin resistance is associated with a disturbed antioxidant defense mechanism. *Diabetes*. 2003;52(9):2338-2345.
35. Heinonen I, Brothers RM, Kemppainen J, Knuuti J, Kalliokoski KK, Crandall CG. Local heating, but not indirect whole body heating, increases human skeletal muscle blood flow. *J Appl Physiol*. 2011;111(3):818-824.
36. Hoekstra SP, Bishop NC, Leicht CA. Elevating body temperature to reduce low-grade inflammation: a welcome strategy for those unable to exercise? *Exerc Immunol Rev*. 2020;26:42-55.
37. Cheng JL, MacDonald MJ. Effect of heat stress on vascular outcomes in humans. *J Appl Physiol*. 2019;126(3):771-781.
38. Romero SA, Gagnon D, Adams AN, Cramer MN, Kouda K, Crandall CG. Acute limb heating improves macro- and microvascular dilator function in the leg of aged humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2017;312(1):H89-H97.
39. Gravel H, Coombs GB, Behzadi P, et al. Acute effect of Finnish sauna bathing on brachial artery flow-mediated dilation and reactive hyperemia in healthy middle-aged and older adults. *Physiol Rep*. 2019;7(13):e14166.

40. Alali MH, Vianna LC, Lucas RAI, Junejo RT, Fisher JP. Impact of whole body passive heat stress and arterial shear rate modification on radial artery function in young men. *J Appl Physiol.* 2020;129(6):1373-1382.
41. Brunt VE, Jeckell AT, Ely BR, Howard MJ, Thijssen DH, Minson CT. Acute hot water immersion is protective against impaired vascular function following forearm ischemia-reperfusion in young healthy humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2016;311(6):R1060-R1067.
42. Paneni F, Beckman JA, Creager MA, Cosentino F. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part I. *Eur Heart J.* 2013;34(31):2436-2443.
43. Frayn KN, Whyte PL, Benson HA, Earl DJ, Smith HA. Changes in forearm blood flow at elevated ambient temperature and their role in the apparent impairment of glucose tolerance. *Clin Sci.* 1989;76(3):323-328.
44. Rynders CA, Weltman JY, Jiang B, et al. Effects of exercise intensity on postprandial improvement in glucose disposal and insulin sensitivity in prediabetic adults. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(1):220-228.
45. Thijssen DH, Black MA, Pyke KE, et al. Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2011;300(1):H2-12.
46. Kruger NJ. The Bradford Method for Protein Quantitation. In: Walker JM, ed. *The Protein Protocols Handbook*. Totowa, NJ: Humana Press; 2009:17-24.
47. Atkinson G, Batterham AM. The percentage flow-mediated dilation index: a large-sample investigation of its appropriateness, potential for bias and causal nexus in vascular medicine. *Vasc Med.* 2013;18(6):354-365.
48. Ramanathan NL. A new weighting system for mean surface temperature of the human body. *J Appl Physiol.* 1964;19(3):531-533.
49. Dalla Man C, Caumo A, Cobelli C. The oral glucose minimal model: estimation of insulin sensitivity from a meal test. *IEEE Trans Biomed Eng.* 2002;49(5):419-429.

50. Bergman RN, Ider YZ, Bowden CR, Cobelli C. Quantitative Estimation of Insulin Sensitivity. *Am J Physiol.* 1979;236:E667-677.
51. Otten J, Ahrén B, Olsson T. Surrogate measures of insulin sensitivity vs the hyperinsulinaemic–euglycaemic clamp: a meta-analysis. *Diabetologia.* 2014;57(9):1781-1788.
52. Kenny GP, Rigal RJ, McGinn R. Body temperature regulation in diabetes. *Temperature.* 2016;4;3(1):119-45.

**Table 1. Participants characteristics.**

<b>Variable</b>	<b>Mean ± SD or n (%)</b>
Age (years)	62 ± 12
Sex (M/F)	8/5
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	30.1 ± 4.6
T2DM duration (years)	7 ± 4
Systolic blood pressure (mmHg)	124 ± 6
Diastolic blood pressure (mmHg)	73 ± 7
Resting heart rate (bpm)	71 ± 15
Total cholesterol (mmol/L)	4.30 ± 1.85
HDL cholesterol (mmol/L)	1.33 ± 0.30
LDL cholesterol (mmol/L)	2.20 ± 1.73
Triglycerides (mmol/L)	1.38 ± 0.68
Fasting glycemia (mmol/L)	7.5 ± 1.3
Fasting HbA1c (%)	6.8 ± 0.8
HOMA-IR	30.90 ± 16.00
Active smokers	1 (8%)
<b>Medications</b>	<b>n (%)</b>
Acetylsalicylic acid	2 (15%)
Antiplatelet agents	2 (15%)
Statins	7 (53%)
ACE inhibitors	1 (8%)
ARBs	4 (30%)
SGLT2 inhibitors	2 (15%)
Diuretics	1 (7%)
Metformin	13 (100%)
Hypoglycemic agents	5 (38%)
GLP-1 receptor agonists	1 (7%)
Anti-depressants	2 (15%)
Antispasmodics	2 (15%)
Central nervous system stimulants	1 (7%)
Corticosteroids	2 (15%)
Imidazopyridines	1 (7%)

HDL: High-density lipoprotein, LDL: Low-density lipoprotein, HbA1C: Glycated hemoglobin, ACE: angiotensin converting enzyme, ARBs: Angiotensin II receptor blockers, SGLT2: Sodium-glucose cotransporter-2, GLP-1: Glucagon-like peptide 1, SD: Standard deviation, n: Number.

**Table 2. Insulin sensitivity indices during an OGTT performed after thermoneutral or hot water immersion.**

Insulin sensitivity index	Thermoneutral	Hot
OMM	1.68 ± 1.51	1.47 ± 0.98
Stumvoll MCR	4.26 ± 2.34	4.37 ± 1.94
Stumvoll ISI	0.04 ± 0.02	0.05 ± 0.02
Gutt	28.67 ± 13.25	22.84 ± 4.36
Belfiore	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.002
Cederholm	13.41 ± 4.76	11.90 ± 2.66
OGIS	318.90 ± 57.74	278.80 ± 48.90*
Matsuda	11.28 ± 8.97	6.21 ± 3.13*

Values are mean ± SD. OMM: Oral minimal model, MCR: Metabolic clearance rate, ISI: insulin sensitivity index, OGIS: Oral Glucose Insulin Sensitivity. \*P<0.05 vs. thermoneutral.



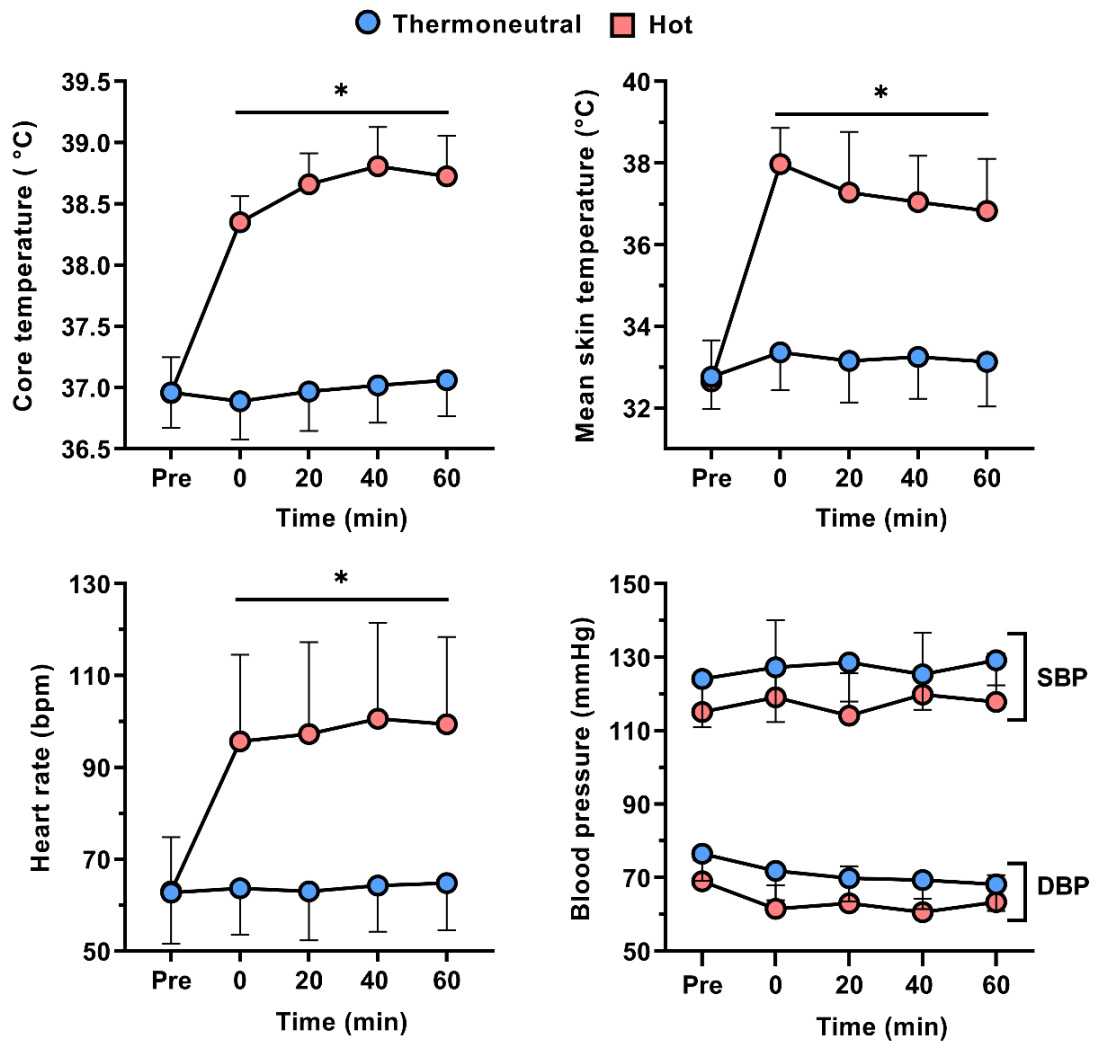
**Table 3. Physiological variables at the time of FMD measurement before (pre) and after (post) thermoneutral or hot water immersion.**

Variable	PRE		POST	
	Thermoneutral	Hot	Thermoneutral	Hot
Mean Tsk (°C)	32.68 ± 0.82	32.65 ± 1.01	33.11 ± 0.79	34.45 ± 0.82*
Tcore (°C)	36.96 ± 0.29	36.96 ± 0.29	36.87 ± 0.36	37.55 ± 0.37*
SBP (mmHg)	124 ± 13	115 ± 8	120 ± 11	114 ± 7
DBP (mmHg)	76 ± 7	69 ± 5	70 ± 6	66 ± 8
Heart rate (bpm)	62 ± 11	63 ± 11	60 ± 9	74 ± 13*
Baseline diameter (mm)	3.98 ± 0.75	4.06 ± 0.85	4.04 ± 0.78	4.17 ± 0.69
Peak diameter (mm)	4.15 ± 0.69	4.19 ± 0.74	4.24 ± 0.82	4.29 ± 0.68
FMD (mm)	0.16 ± 0.14	0.15 ± 0.12	0.17 ± 0.11	0.12 ± 0.11
FMD (%)	4.58 ± 4.20	4.05 ± 3.83	4.41 ± 3.47	3.03 ± 2.82
Time to peak diameter (s)	68 ± 22	58 ± 21	58 ± 19	72 ± 18
SR AUC to peak (s <sup>-1</sup> )	5965 ± 2488	7463 ± 4105	7692 ± 5051	7648 ± 3460
Antegrade SR (s <sup>-1</sup> )	59 ± 28	66 ± 26	62 ± 28	121 ± 51*
Retrograde SR (s <sup>-1</sup> )	-5 ± 3	-3 ± 8	-6 ± 4	-4 ± 5
FVC (ml/min/mmHg)	0.51 ± 0.36	0.44 ± 0.25	0.57 ± 0.34	1.31 ± 0.98*
Peak FVC (ml/min/mmHg)	2.43 ± 1.28	2.78 ± 1.12	2.67 ± 1.55	3.14 ± 1.50
FVC AUC (ml/mmHg x min)	1.17 ± 0.64	1.36 ± 0.65	1.50 ± 1.20	1.47 ± 0.82
CVC (PU/mmHg)	0.21 ± 0.08	0.27 ± 0.12	0.23 ± 0.14	0.63 ± 0.36*
Peak CVC (PU/mmHg)	0.96 ± 0.32	1.02 ± 0.34	0.92 ± 0.30	1.37 ± 0.48*
CVC AUC (PU/mmHg x min)	46.37 ± 24.84	49.55 ± 18.21	39.13 ± 11.18	49.68 ± 61.85

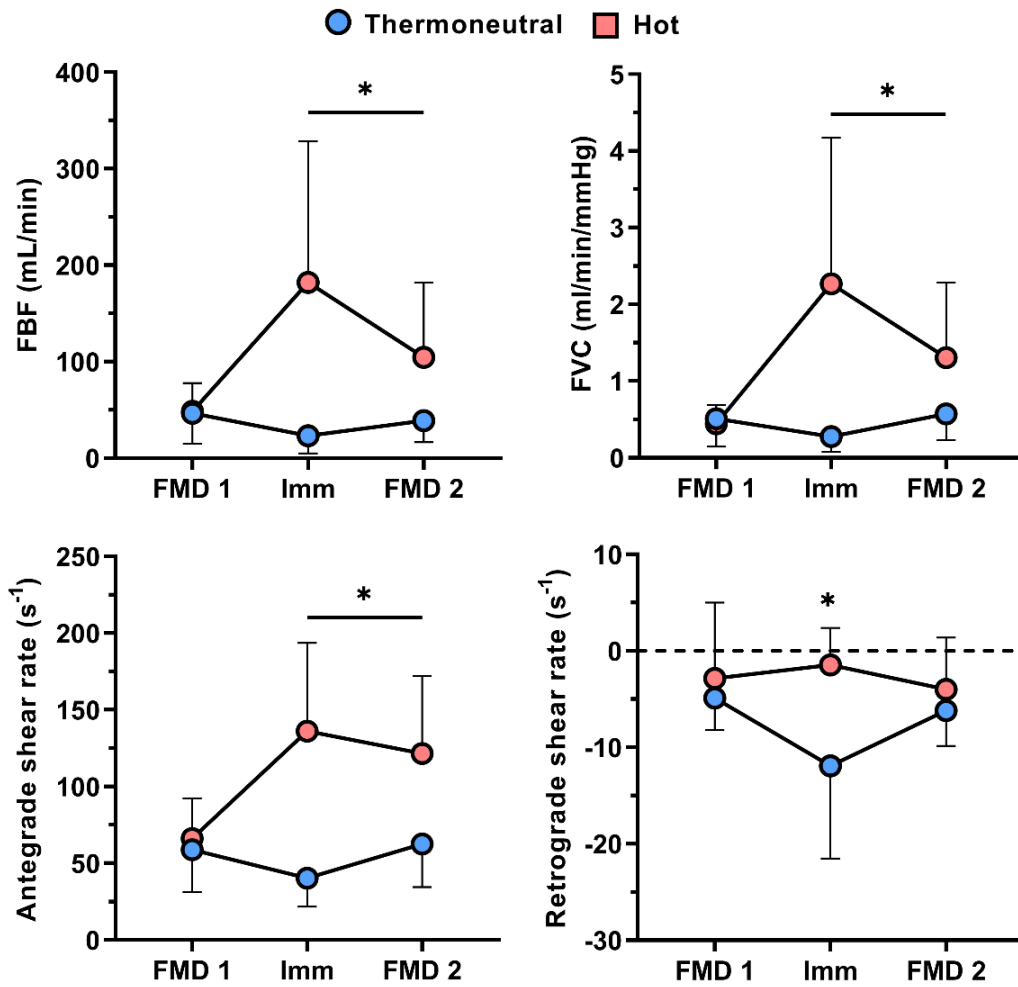
Data are mean ± SD. Tsk: Skin temperature, Tcore: Core temperature, SBP: Systolic blood pressure, DBP: Diastolic blood pressure, FMD: Flow-mediated dilation, SR: shear rate, FVC: Forearm vascular conductance, AUC: Area under the curve, CVC: cutaneous vascular conductance. \*P<0.05 vs. thermoneutral.

**Table 4. Primer sequences used for mRNA expression analysis of HSP70, HSP90 and HPRT.**

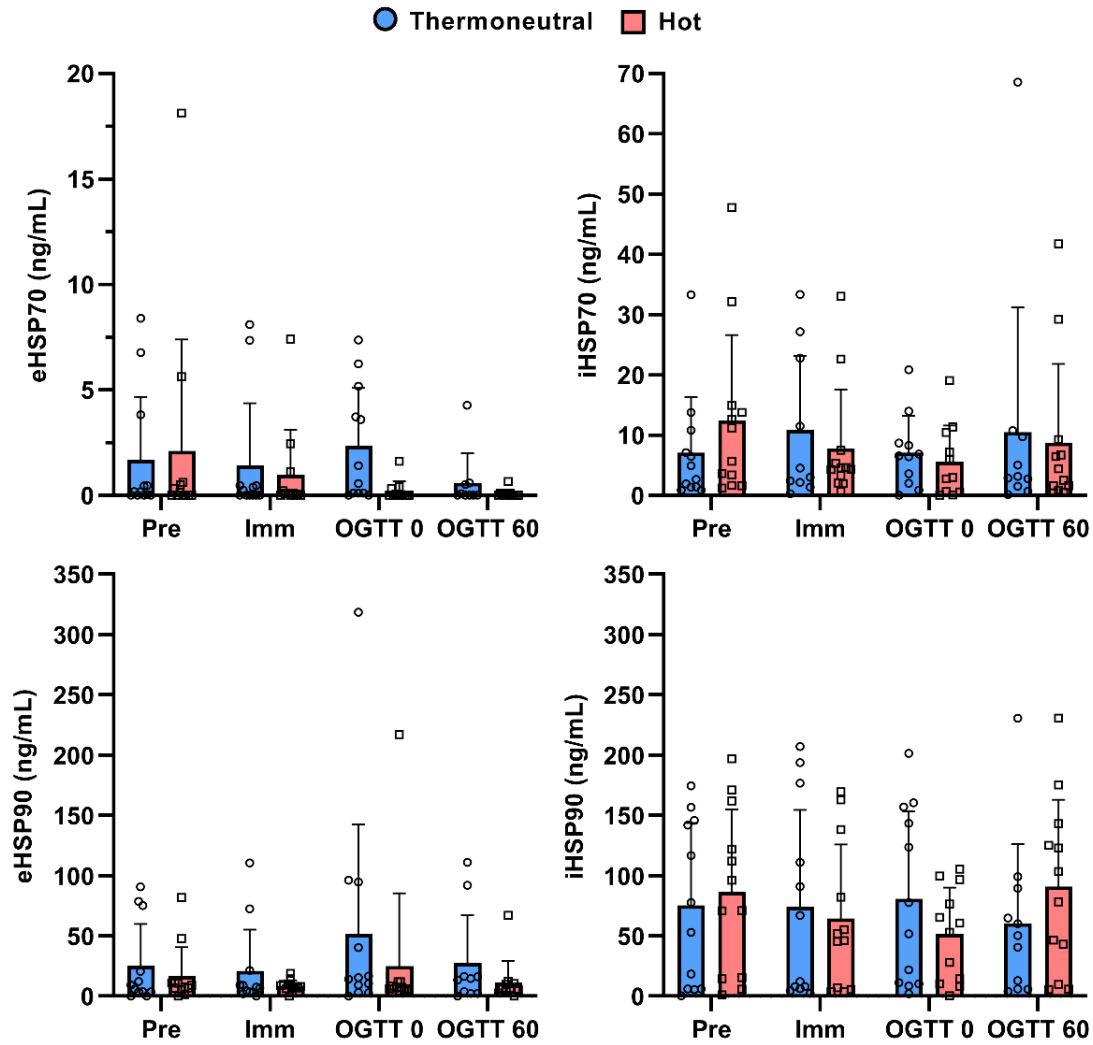
<b>Gene</b>	<b>Primer</b>	<b>Sequence (5'-3')</b>
HSP70	Forward	AGGACATCAGCCAGAACAAG
	Reverse	GTAGAAGTCGATGCCCTCAA
HSP90	Forward	AAACTGCGCTCCTGTCTTCT
	Reverse	TGCGTGATGTGTCGTCATCT
HPRT	Forward	TGGCGTCGTGATTAGTGATG
	Reverse	CAGAGGGCTACAATGTGATGG



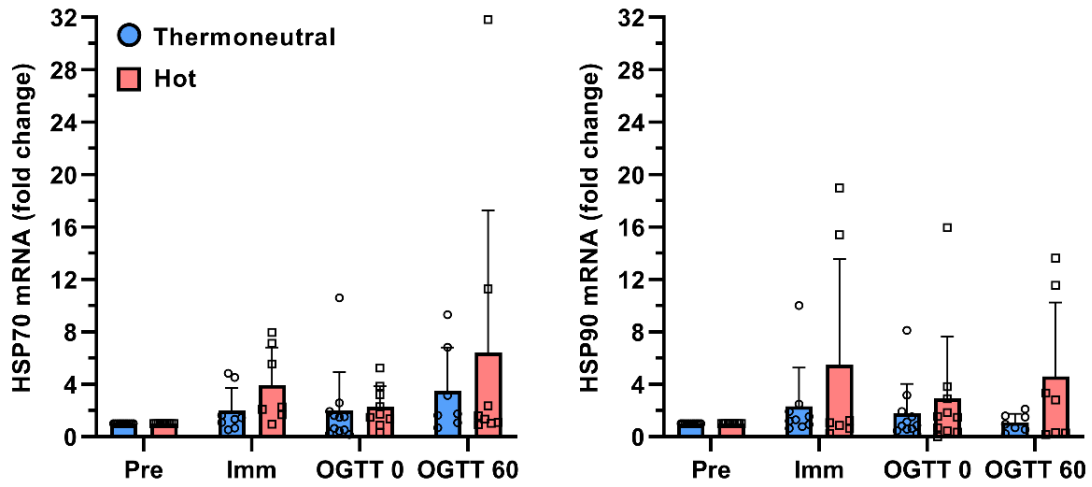
**Figure 1.** Thermoregulatory and hemodynamic responses during thermoneutral and hot water immersion in adults with type 2 diabetes. Values are presented as mean  $\pm$  standard deviation for timepoint before immersion and during the last 60 minutes of immersion. \*P<0.05 relative to thermoneutral immersion.



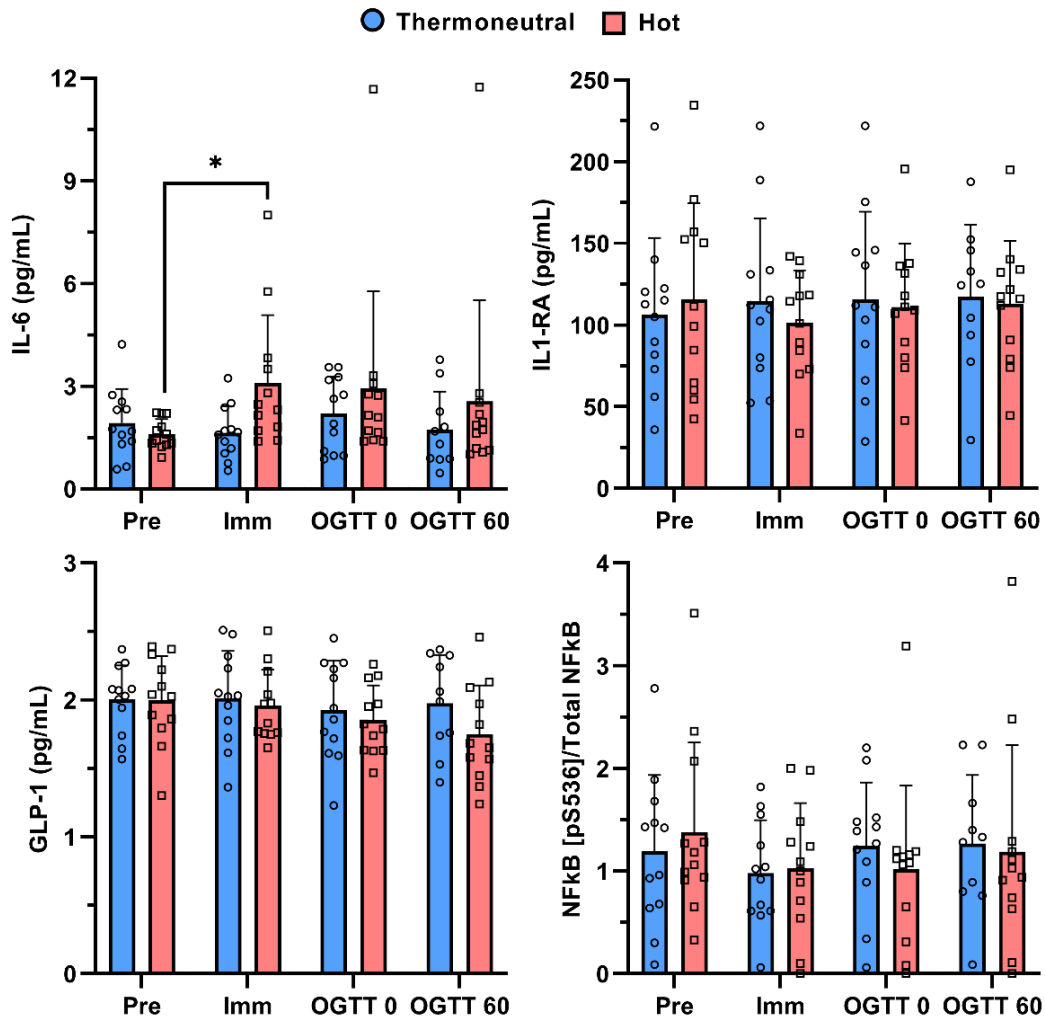
**Figure 2.** Brachial artery blood flow, vascular conductance and shear rates in response to thermoneutral and hot water immersion in adults with type 2 diabetes. Values are presented as mean  $\pm$  standard deviation for timepoints prior to immersion (FMD1), during the last 10 minutes of immersion (Imm) and ~40 minutes post immersion (FMD2). \*P<0.05 relative to thermoneutral immersion.



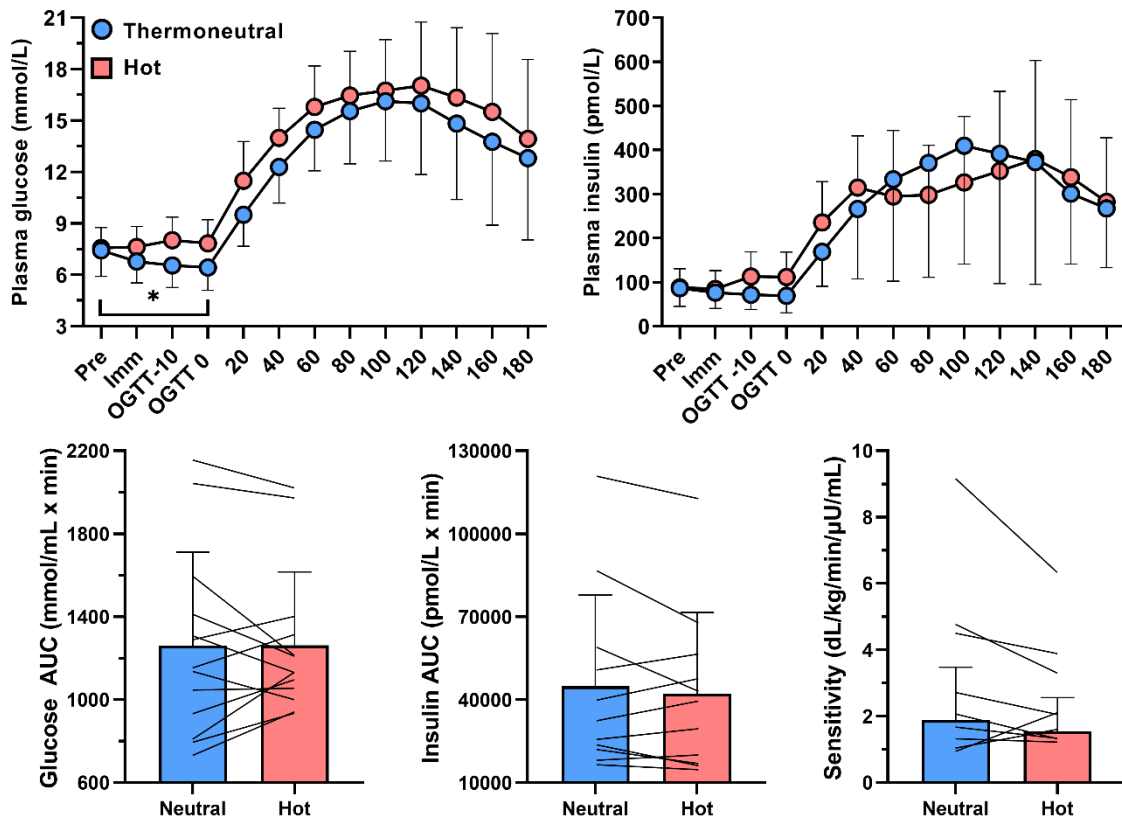
**Figure 3.** Intracellular (iHSP) and circulating (eHSP) concentrations of heat shock proteins (HSP) 70 and 90 before, during and after thermoneutral and hot water immersion in adults with type 2 diabetes. Values are presented as mean  $\pm$  standard deviation with individual values for timepoints prior to immersion (Pre), during the last 10 minutes of immersion (Imm), 60 minutes post immersion prior to an oral glucose tolerance test (OGTT 0) and 60 minutes into the oral glucose tolerance test (OGTT 60).



**Figure 4.** Fold change in total mRNA levels of heat shock proteins (HSP) 70 and 90 within peripheral blood mononuclear cells before, during and after thermoneutral and hot water immersion in adults with type 2 diabetes. Values are presented as mean  $\pm$  standard deviation with individual values for timepoints prior to immersion (Pre), during the last 10 minutes of immersion (Imm), 60 minutes post immersion prior to an oral glucose tolerance test (OGTT 0) and 60 minutes into the oral glucose tolerance test (OGTT 60).



**Figure 5.** Circulating concentrations of interleukin 6 (IL-6), interleukin 1 receptor antagonist (IL1-RA), and glucagon-like peptide 1 (GLP-1), as well as intracellular phosphorylated nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NFκB) before, during and after thermoneutral and hot water immersion in adults with type 2 diabetes. Values are presented as mean  $\pm$  standard deviation with individual values for timepoints prior to immersion (Pre), during the last 10 minutes of immersion (Imm), 60 minutes post immersion prior to an oral glucose tolerance test (OGTT 0) and 60 minutes into the oral glucose tolerance test (OGTT 60). \* $P < 0.05$  relative to Pre.



**Figure 6.** Plasma glucose and insulin concentrations in response to thermoneutral and hot water immersion and an oral glucose tolerance test (top panels), as well as area under the curve (AUC) values and insulin sensitivity (bottom panels) during an oral glucose tolerance test performed after thermoneutral and hot water immersion in adults with type 2 diabetes. Values are presented as mean  $\pm$  standard deviation (top panels) or mean  $\pm$  standard deviation with individual values (bottom panels). Pre, prior to immersion; Imm, during the last 10 minutes of immersion; OGTT-10, 10 minutes prior to the oral glucose tolerance test; OGTT 0, immediately prior to the oral glucose tolerance test. \* $p < 0.05$  relative to Pre.



### 3.2 Article de these #2

## **Acute vascular benefits of Finnish sauna bathing in patients with stable coronary artery disease**

**Version finale de l'article publié dans la revue Canadian Journal of Cardiology, Volume 37, Issue 3, P. 493-499, March 01, 2021 (Annexe 6.1)**

**\*Hugo Gravel (PhD)<sup>a,b</sup>, \*Parya Behzadi (MSc)<sup>a,b</sup>, Sarah Cardinal (BSc)<sup>a,b</sup>, Hadiatou Barry (MSc)<sup>a,b</sup>, Paul-Eduard Neagoe (PhD)<sup>c</sup>, Martin Juneau (MD)<sup>a</sup>, Anil Nigam (MD)<sup>a</sup>, Martin G. Sirois (PhD)<sup>b,c</sup>, Daniel Gagnon (PhD)<sup>a,b,c</sup>**

**\*Authors contributed equally to this work.**

a – Cardiovascular prevention and rehabilitation centre, Montreal Heart Institute, Montréal, Canada

b – Department of pharmacology and physiology, Faculty of medicine, Université de Montréal, Montréal, Canada

c – Research centre, Montreal Heart Institute, Montréal, Canada

**Short title:** Finnish sauna bathing and vascular function in CAD

#### **Corresponding author:**

Daniel Gagnon, PhD

Cardiovascular Prevention and Rehabilitation Centre, Montreal Heart Institute

5055 rue Saint-Zotique Est, Montréal, QC, Canada, H1T 1N6

Tel: +1 514-374-1480 x4205

Fax: +1 514 374-2445

daniel.gagnon.3@umontreal.ca

## **BRIEF SUMMARY**

Finnish sauna bathing habits are associated with a reduced risk of cardiovascular mortality. Physiological adaptations mediating this association remain unknown. We hypothesized that Finnish sauna bathing acutely improves peripheral flow-mediated dilation (FMD) and microvascular reactivity in patients with coronary artery disease (CAD). A typical Finnish sauna bathing session acutely improved FMD, but not microvascular reactivity in patients with CAD. Future studies should consider the implications of Finnish sauna bathing for secondary cardiovascular disease prevention.

## **ABSTRACT**

**Background:** Finnish sauna bathing habits are associated with a decreased risk of cardiovascular mortality. The physiological adaptations mediating this association remain to be fully elucidated. This study tested the hypothesis that Finnish sauna bathing acutely improves peripheral flow-mediated dilation (FMD) in middle-aged and older adults with stable coronary artery disease (CAD). **Methods:** Twenty-two adults (20 males/2 females,  $67 \pm 10$  years) with stable CAD underwent 2 periods of 10 minutes in a Finnish sauna ( $81.3 \pm 2.7^\circ\text{C}$ ,  $23 \pm 3\%$  humidity) separated by 10 minutes of thermoneutral rest. Before and 51  $\pm$  8 minutes after sauna bathing, brachial artery FMD and post-occlusive reactive hyperemia (PORH) were evaluated by Doppler ultrasound. **Results:** Sauna bathing increased core temperature ( $+0.66^\circ\text{C}$  [0.54, 0.77],  $P < 0.01$ ) and heart rate ( $+27$  bpm [24, 29],  $P < 0.01$ ), and decreased systolic ( $-19$  mmHg [-27, -9],  $P < 0.01$ ) and diastolic ( $-6$  mmHg [-10, -2],  $P < 0.01$ ) blood pressures. Brachial artery FMD was greater following sauna bathing ( $+1.21\%$  [0.16, 2.26],  $P = 0.04$ ), while PORH was unchanged (Peak:  $+0.51$  ml/min/mmHg [-0.13, 1.15],  $P = 0.11$ ; AUC:  $+0.21$  ml/mmHg [-0.12, 0.54],  $P = 0.19$ ). **Conclusion:** A typical Finnish sauna bathing session acutely improves peripheral FMD in middle-aged and older adults with stable CAD.

## INTRODUCTION

Recent epidemiologic evidence suggests that regular Finnish sauna use provides multiple health benefits<sup>1</sup>. Finnish sauna bathing may be particularly beneficial for cardiovascular health, as frequency and duration of Finnish sauna bathing were associated with a reduced risk of cardiovascular mortality<sup>2</sup>, hypertension<sup>3</sup>, stroke<sup>4</sup> and dementia<sup>5</sup> in a prospective cohort of middle-aged Finnish males. However, the physiological adaptations linking sauna use to reduced cardiovascular risk remain to be fully elucidated.

A potential physiological adaptation that could underlie the cardiovascular benefits of Finnish sauna bathing is the effect of heat exposure on markers of vascular health<sup>6</sup>. Passive heat exposure notably improves brachial artery flow-mediated dilation (FMD), an independent predictor of cardiovascular events<sup>7</sup>. Previous studies have demonstrated that brachial artery FMD is improved following repeated whole-body<sup>8, 9</sup> or isolated forearm<sup>10</sup> hot water immersion in young healthy adults, as well as following 2-3 weeks of daily far-infrared sauna use in middle-aged men with cardiovascular risk factors<sup>11</sup> and chronic heart failure<sup>12, 13</sup>. Brachial<sup>14, 15</sup> and femoral<sup>16</sup> artery FMD are also improved acutely following hot water limb immersion in healthy young and older adults, respectively. In contrast, we demonstrated that Finnish sauna bathing does not acutely improve brachial artery FMD in healthy middle-aged and older adults<sup>17</sup>. Although Finnish sauna bathing increases body temperature and heart rate<sup>17</sup>, and decreases peripheral vascular resistance<sup>18</sup> and blood pressure<sup>17-20</sup>, it may not provide a sufficient thermal and/or cardiovascular stimulus relative to other heating modalities to acutely improve peripheral FMD in healthy individuals. However, it remains unknown if the thermal and/or cardiovascular responses associated with Finnish sauna bathing acutely improve peripheral FMD in individuals with endothelial dysfunction, such as individuals with overt cardiovascular disease.

The primary objective of this study was to test the hypothesis that Finnish sauna bathing acutely improves brachial artery FMD in patients with stable coronary artery disease (CAD). A secondary objective was to explore the effect of Finnish sauna bathing on peripheral microvascular function and inflammatory markers within this population.

## **MATERIALS AND METHODS**

### *Ethical approval*

This study was approved by the Montreal Heart Institute Research Ethics and New Technology Development Committee (#2017-2179). All participants provided written informed consent prior to their participation in the study.

### *Participants*

Twenty-two participants, >50 years of age with stable CAD were recruited. Stable CAD was defined as:  $\geq 70\%$  arterial diameter narrowing of at least one major epicardial coronary artery documented by angiography and treated by percutaneous coronary intervention and/or coronary artery bypass graft >3 months before enrollment, with stable medication  $\geq 1$  month prior to enrollment. Exclusion criteria included: left ventricular ejection fraction <40% and/or clinical evidence of heart failure, significant valvular heart disease, uncontrolled hypertension or diabetes, resting ECG abnormalities interfering with ST segment analysis. Female participants were post-menopausal and not on hormonal replacement therapy. Eligibility was determined during preliminary visits that included detailed medical history and lifestyle questionnaires, a resting 12-lead ECG and blood pressure measurement and a fasted blood sample. Physical activity level and sedentary time were also assessed using the Global Physical Activity Questionnaire<sup>21</sup> and participants were asked to self-report their sauna use habits.

### *Study design*

Brachial artery FMD and microvascular reactivity were evaluated before and after 2 x 10 minutes of Finnish sauna bathing separated by 10 minutes of rest outside the sauna. This protocol reflects typical Finnish sauna bathing practice<sup>1</sup> and is consistent with the mean session duration (~14 minutes) reported by Finnish men who demonstrated a reduced risk of cardiovascular mortality<sup>2</sup>. Before the experimental visit, participants were asked to fast for 12 hours and consume a standardized snack (47 g carbohydrate, 3.5 g fat, 2 g protein) 1 hour prior to their arrival to the laboratory. Participants were also asked to refrain from alcohol and caffeine or other stimulants, and to avoid intense physical activity and heat exposure for 12 hours prior to the visit. Supplements and over-the-counter medications were not allowed 12 hours prior to the visits, but participants were asked to maintain their prescribed medication regimen.

Upon arrival to the laboratory (between 7:30 and 9:30 AM), participants provided a urine sample before weighing themselves nude. They then dressed into shorts (for males) or shorts and a sports bra or loose t-shirt (for females) and were instrumented before lying down supine within a quiet and thermoneutral environment (24°C). After 30 minutes of supine rest, brachial artery FMD and microvascular reactivity were evaluated and a venous blood sample was taken. Participants then walked to the sauna and sat upright outside the sauna for ≥5 minutes to obtain pre-sauna measurements of heart rate, blood pressure and body temperatures. Participants then entered a traditional Finnish sauna (81.3 ± 2.7°C and 23 ± 3% humidity) and sat upright on the upper bench for 10 minutes. Participants then exited the sauna and sat for 10 minutes before re-entering the sauna for a second 10-minute exposure. Participants then walked back to the laboratory and laid down in a supine position for 30 minutes. A venous blood sample was taken before brachial artery FMD and microvascular reactivity were reassessed. Participants could drink water ad libitum throughout the visit. A nude weight was obtained at the end of the visit.

## *Measurements*

Body height was measured with a stadiometer (model 216, Seca) and body mass with a digital scale (IND236, Mettler-Toledo, precision: 0.01 kg). Urine specific gravity was measured with a digital refractometer (PAL-10S, Atago). Heart rate was obtained from lead II of a 5-lead ECG (Solar i8000, GE Healthcare). Systolic and diastolic blood pressures were measured by ECG-gated auscultation of the brachial artery (Tango M2, SunTech Medical). Skin temperatures were measured with wireless sensors (iButtons, Embedded Data Systems) taped onto the chest, shoulder, thigh and calf. Oral temperature was measured with a handheld thermometer (SureTemp Plus 690, Welch Allyn). Core temperature was measured with an ingestible telemetric pill (CorTemp, HQ inc.) that participants swallowed upon awakening the morning of their visit.

Brachial artery FMD was measured according to expert guidelines<sup>22</sup>. Brachial artery diameter and blood velocity were measured simultaneously by high-resolution Doppler ultrasound (uSmart3300, Terason) equipped with a 4-15 MHz linear array transducer probe at an insonation angle of 60°. A rapid inflation/deflation pneumatic cuff (SC5, Hokanson) was placed immediately distal to the antecubital fossa. The ultrasound probe was placed 5-15 cm proximal to the antecubital fossa, where an optimal B-mode image could be obtained. The measurement site was identified with a surgical marker and measurements pre/post sauna were made at the same site. Brachial artery diameter and blood velocity were recorded for 1-minute following which the forearm cuff was inflated to 250 mmHg for 5 minutes by a rapid cuff inflator (E20, Hokanson). The recording resumed 1 minute before cuff deflation and continued for 3 minutes post-occlusion. Ultrasound recordings were sent to a remote computer using a frame grabber (DVIUSB 3.0, Epiphan), were video captured (Camtasia v.9, TechSmith) and analyzed using edge-detection and wall-tracking software (Cardiovascular Suite v.3, Quipu SRL). This method provided measurements of arterial diameter and time-averaged positive (antegrade)/negative (retrograde) blood velocities based on the Doppler envelope, at a sampling rate of 30 Hz.

The blood samples were centrifuged (1500 g, 10 minutes, 4°C) and supernatants were stored at -80°C. Serum concentrations of interleukin-1 receptor antagonist (IL-1RA), IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) and soluble vascular adhesion molecule-1 (sVCAM-1) were determined with magnetic luminex assay kits (R&D systems). Kit sensitivities were: 4.05 pg/mL for IL1-RA, 0.08 pg/mL for IL-1 $\beta$ , 0.14 pg/mL for IL-6, 0.211 pg/mL for IL-10, 0.29 pg/mL for TNF- $\alpha$ , 0.096 ng/mL for sICAM-1, and 0.6 ng/mL for sVCAM-1. High sensitivity CRP was determined with the Siemens CardioPhase assay (Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH, sensitivity: 0.1 mg/L).

### *Data analyses*

Baseline brachial artery diameter was defined as the average diameter during the 1-minute baseline recording. Peak brachial artery diameter was defined as the maximal 1-second average during the post-occlusion period. Unadjusted FMD was determined as the percentage change in brachial artery diameter from baseline to peak. Shear rate ( $4 \times$  mean blood velocity/diameter) area-under-the-curve (AUC) up to peak diameter was considered the stimulus for FMD. Antegrade and retrograde shear rates were calculated using positive and negative mean blood velocity, respectively. Microvascular reactivity was quantified as peak and AUC forearm vascular conductance (FVC, forearm blood flow  $\div$  mean arterial pressure) during the 3-minute post-occlusion period. Mean skin temperature was calculated from the skin temperature measurements<sup>23</sup>. Sweat loss was calculated as the change in nude body weight corrected for fluid intake and/or urine output.

### *Statistical analyses*

Based on previous data<sup>16</sup>, we calculated that 16 participants would provide 80% power to detect a  $1.5 \pm 1.5\%$  change in FMD using a two-tailed paired t-test with an  $\alpha$  of 0.01. An increase in FMD of 1.5% was considered meaningful, as the relative risk of

cardiovascular events decreases by 13% per 1% increase in FMD<sup>24</sup>. Such a change would also be greater than that observed during repeated measurements in our laboratory (-0.11% [-1.14, 0.92], P=0.82)<sup>17</sup>. Normality of data distribution was verified with the Shapiro-Wilk test. Paired t-tests (normal distribution) or Wilcoxon signed-ranks test (deviation from normality) were used to compare values measured at 2 time points. A repeated measures ANOVA, with Greenhouse-Geisser's adjustment when there was deviation from the assumption of sphericity (Mauchly's test), was used to compare data measured at >2 time points. Post-hoc comparisons were conducted using Sidak's adjustment. Baseline diameter was used as a covariate for FMD comparisons, based on an allometric scaling approach<sup>25</sup>. Shear rate AUC was also used as a covariate for FMD analyses to account for potential changes in the stimulus for FMD. The critical P value was set at <0.05. Statistical analyses were performed using commercial software (IBM SPSS v.24 and GraphPad Prism 8.0.1). Data are reported as mean  $\pm$  standard deviation and changes are reported as mean [95% confidence interval].

## RESULTS

Participant characteristics are presented in Table 1. All participants completed sauna bathing without any adverse events.

### *Physiological responses during sauna bathing*

Thermoregulatory and hemodynamic variables during sauna bathing are depicted in Figure 1. Sauna bathing increased mean skin (+9.2°C [8.4, 9.7], P<0.01), oral (+1.0°C [0.7, 1.2], P<0.01) and core (+0.6°C [0.4, 0.8], P<0.01) temperatures, as well as heart rate (+27 bpm [23, 31], P<0.01). Sauna bathing decreased systolic (-19 mmHg [-6, -31], P<0.01) and diastolic (-6 mmHg [-1, -11], P=0.03) blood pressures. Sweat loss was 0.45  $\pm$  0.12 kg (-0.51  $\pm$  0.12% of initial body weight).

### *Vascular function before and after sauna bathing*



Ultrasound recordings of sufficient quality for analyses were obtained in 17 participants. Physiological variables at the time of FMD assessments for these participants are reported in Table 2. Post-sauna measurements were performed  $51 \pm 8$  minutes after exiting the sauna. Prior to the post-sauna FMD measurement, mean skin ( $+1.0^{\circ}\text{C}$  [0.4, 1.6],  $P < 0.01$ ) and core ( $+0.3^{\circ}\text{C}$  [0.2, 0.5],  $P < 0.01$ ) temperatures remained elevated whereas systolic blood pressure remained lower ( $-9$  mmHg [-16, -3],  $P = 0.01$ ) compared to pre-sauna measurements. An increased antegrade and decreased retrograde shear rate was also observed post-sauna. Brachial artery FMD was greater after sauna bathing, expressed as absolute ( $+0.05$  mm [0.00, 0.09],  $P = 0.03$ ) and relative ( $+1.21\%$  [0.16, 2.26],  $P = 0.04$ ) values (Table 2). The greater FMD post-sauna remained significant when accounting for baseline diameter ( $P = 0.03$ ) and when including baseline diameter and shear rate AUC as covariates ( $P = 0.03$ ). No effect of sauna was observed for peak FVC ( $+0.51$  ml/min/mmHg [-0.13, 1.15],  $P = 0.11$ ) and FVC AUC ( $+0.21$  ml/mmHg [-0.12, 0.54],  $P = 0.19$ ).

### *Markers of inflammation*

IL-6 was greater post-sauna ( $0.85 \pm 0.89$  to  $1.16 \pm 1.28$  pg/mL, change:  $+0.30$  [0.11, 0.51],  $P < 0.01$ ). The change in IL1-RA ( $1227 \pm 329$  to  $1280 \pm 396$  pg/mL, change:  $+38.67$  [-44.82, 153.1],  $P = 0.23$ ), CRP ( $1.05 \pm 1.15$  to  $1.06 \pm 1.25$  mg/L, change:  $-0.03$  [-0.60, -0.01],  $P = 0.14$ ), sICAM-1 ( $0.56 \pm 0.28$  to  $0.57 \pm 0.27$  ng/mL, change:  $0.00$  ng/ml [-0.02, 0.04],  $P = 0.46$ ), sVCAM-1 ( $1.08 \pm 0.32$  to  $1.12 \pm 0.32$  ng/mL, change:  $+0.01$  [-0.02, 0.09],  $P = 0.40$ ), and TNF- $\alpha$  ( $12.5 \pm 3.4$  to  $12.5 \pm 3.9$  pg/mL, change:  $+0.39$  [-0.60, 0.62],  $P = 0.71$ ) were not significant. The coefficient of variation for IL-6, IL1-RA, CRP, sVCAM-1, sICAM-1, and TNF- $\alpha$  was 5.2%, 3.4%, 7.5%, 2.5%, 3.0%, and 4.3%, respectively. Concentrations of IL-1 $\beta$  and IL-10 were below the detectable threshold before and after sauna bathing.

## **DISCUSSION**

This study examined the acute effect of a typical Finnish sauna session on brachial artery FMD, microvascular reactivity, and circulating markers of inflammation in patients with stable CAD. The results show that Finnish sauna bathing acutely improves brachial artery FMD, reduces systolic blood pressure, and increases the circulating concentration of IL-6.

Motivated by the observation that Finnish sauna bathing is associated with a reduced risk of cardiovascular mortality<sup>2</sup>, recent studies have examined potential mechanisms that underlie this association. A prevailing hypothesis is that heat exposure induces physiological responses that are beneficial for cardiovascular health<sup>1</sup>. Indeed, heat exposure improves peripheral FMD, arterial stiffness, and microvascular reactivity<sup>6</sup>. However, studies performed to date have employed models of heat exposure (prolonged hot water immersion, infrared sauna) that are not representative of Finnish sauna bathing. Therefore, it is debatable whether the observations made with such models can be used to explain the relationship between Finnish sauna bathing habits and risk of cardiovascular mortality. Although previous studies have reported the acute cardiovascular responses during Finnish sauna bathing, these studies have been limited to asymptomatic individuals<sup>18, 19, 26-28</sup>. This is an important consideration, as ~58% of the cohort in whom Finnish sauna bathing habits were associated with a reduced risk of cardiovascular mortality were symptomatic – including 24% with CAD. Few studies employing Finnish sauna bathing have been performed in symptomatic individuals and these studies were motivated by safety concerns<sup>20,29</sup>. The current study extends previous studies by demonstrating two acute physiological adaptations associated with Finnish sauna bathing that may be beneficial for long-term cardiovascular health in patients with stable CAD: improved brachial artery FMD and a lowering of systolic blood pressure. Considering that brachial artery FMD<sup>7</sup> and systolic blood pressure<sup>30</sup> are independent predictors of future cardiovascular events, such physiological adaptations may underlie the inverse relationship between Finnish sauna bathing habits and cardiovascular risk<sup>2</sup>. However,

future studies are needed to determine if the acute responses we observed persist following long-term Finnish sauna bathing.

Previous studies have demonstrated that heat-induced improvements in brachial artery FMD are mediated by an increase in arterial shear stress<sup>8, 10, 15</sup>. Specifically, the beneficial effect of heat exposure on brachial artery FMD is thought to result from increased antegrade and decreased retrograde shear stress. Although we did not measure shear stress during sauna bathing, shear stress was elevated post-sauna and the shear pattern shifted towards increased antegrade and reduced retrograde shear stress. This residual effect of sauna bathing on shear stress is likely related to the thermoregulatory and cardiovascular adjustments that occur during Finnish sauna bathing. In the current study, sauna bathing resulted in a notable increase in skin (to ~42°C) and core (by ~0.6°C) temperatures as well as heart rate (by ~27 beats/min) within a short, 20-minute exposure. We hypothesize that these physiological responses increased blood flow throughout the vascular tree and resulted in greater shear stress upon the vascular endothelium. However, the current study was not designed to determine the mechanism(s) through which Finnish sauna bathing improves brachial artery FMD and future studies are needed to investigate the possibility that greater shear stress mediated the acute improvement in brachial artery FMD.

The current observations are consistent with a prior study that observed an acute improvement in femoral artery FMD following lower leg hot water immersion in healthy older adults<sup>16</sup>. In contrast, we reported that Finnish sauna bathing does not acutely improve brachial artery FMD in healthy middle-aged and older adults<sup>17</sup>. One possibility for these divergent observations is that the shear stimulus required to acutely improve peripheral FMD is dependent upon baseline endothelial function, such that improvements in peripheral FMD may require less of a shear stimulus in individuals with vascular dysfunction. Regardless, the current study demonstrates that a typical Finnish sauna

bathing session provides a sufficient “dose” of passive heating to acutely improve brachial artery FMD in patients with stable CAD. In contrast, microvascular reactivity and most inflammatory markers remained unchanged following sauna bathing. One exception is the observed increase in IL-6. Chronically elevated levels of IL-6 are associated with an increased cardiovascular risk, including lower brachial artery FMD and microvascular reactivity<sup>31</sup>. In the current study, a greater brachial artery FMD was observed following sauna bathing, despite elevated IL-6 concentrations. This observation suggests that an acute increase in circulating IL-6 does not necessarily impair brachial artery FMD. This possibility may relate to the stimulus that mediates the increase in IL-6. For example, acute and transient increases in IL-6 during exercise are thought to stimulate the long-term anti-inflammatory profile associated with exercise training<sup>32</sup>. Although future studies are needed to determine if the acute increase in IL-6 observed following sauna bathing is associated with an anti-inflammatory response, it is interesting to note that lower levels of the pro-inflammatory marker CRP have been reported in regular Finnish sauna users<sup>33</sup>.

### *Limitations*

When interpreting the results of this study, the following limitations should be considered. First, we did not include a control intervention. However, repeat measurements of peripheral FMD are similar within our laboratory<sup>17</sup>. Second, we only examined one sauna intervention and cannot determine if shorter or longer sauna durations also improve brachial artery FMD. Third, we cannot determine if the greater brachial artery FMD observed following sauna bathing reflects an improvement in endothelial and/or vascular smooth muscle function since we did not perform a measurement of endothelial-independent dilation. Fourth, participants were asked to maintain their medication regimen the day of the experimental visit. Fifth, the study sample included only stable and optimally treated CAD patients.

## **CONCLUSIONS**

This study demonstrates that Finnish sauna bathing improves brachial artery FMD, reduces systolic blood pressure and increases the circulating concentration of IL-6 in patients with stable CAD. Future studies should consider the long-term implications of Finnish sauna bathing for secondary cardiovascular disease prevention.

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

We thank Céline Ferland, Geoff B. Coombs, Virginie Marcoux-Clément, Ange Gianni Elaheebaccus and the medical personnel of the Montreal Heart Institute Cardiovascular Prevention and Rehabilitation Centre for their contribution to data collection.

## **AUTHOR CONTRIBUTIONS**

H.G., P.B., M.G., A.N., M.G.S., and D.G. contributed to study conception and design. H.G., P.B., S.C., H.B., H.B., P.E.N. contributed to data acquisition and analysis. All authors contributed to data interpretation. H.G., P.B. and D.G. drafted the manuscript and all authors revised it for important intellectual content. All authors have approved the final version of the manuscript and agree to be accountable for all aspects of the work.

## **FUNDING SOURCES**

Fonds de Recherche du Québec – Santé, Heat and Stroke Foundation of Canada, Montreal Heart Institute Foundation, Canada Foundation for Innovation.

## **DISCLOSURES**

None.

## REFERENCES

1. Laukkanen JA, Laukkanen T, Kunutsor SK. Cardiovascular and Other Health Benefits of Sauna Bathing: A Review of the Evidence. *Mayo Clin Proc.* 2018;93:1111-1121.
2. Laukkanen T, Khan H, Zaccardi F, Laukkanen JA. Association between sauna bathing and fatal cardiovascular and all-cause mortality events. *JAMA Intern Med.* 2015;175:542-548.
3. Zaccardi F, Laukkanen T, Willeit P, Kunutsor SK, Kauhanen J, Laukkanen JA. Sauna bathing and incident hypertension: A prospective cohort study. *Am J Hypertens.* 2017;30:1120-1125.
4. Kunutsor SK, Khan H, Zaccardi F, Laukkanen T, Willeit P, Laukkanen JA. Sauna bathing reduces the risk of stroke in Finnish men and women: A prospective cohort study. *Neurology.* 2018;90:e1937-e1944.
5. Laukkanen T, Kunutsor S, Kauhanen J, Laukkanen JA. Sauna bathing is inversely associated with dementia and Alzheimer's disease in middle-aged Finnish men. *Age Ageing.* 2017;46:245-249.
6. Cheng JL, MacDonald MJ. Effect of Heat Stress on Vascular Outcomes in Humans. *J Appl Physiol* 2019;126:771-781.
7. Yeboah J, Folsom AR, Burke GL, et al. Predictive value of brachial flow-mediated dilation for incident cardiovascular events in a population-based study: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Circulation.* 2009;120:502-509.
8. Carter HH, Spence AL, Atkinson CL, Pugh CJ, Naylor LH, Green DJ. Repeated core temperature elevation induces conduit artery adaptation in humans. *Eur J Appl Physiol.* 2014;114:859-865.
9. Brunt VE, Howard MJ, Francisco MA, Ely BR, Minson CT. Passive heat therapy improves endothelial function, arterial stiffness and blood pressure in sedentary humans. *J Physiol.* 2016;594:5329-5342.

10. Naylor LH, Carter H, FitzSimons MG, Cable NT, Thijssen DH, Green DJ. Repeated increases in blood flow, independent of exercise, enhance conduit artery vasodilator function in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011;300:H664-669.
11. Imamura M, Biro S, Kihara T, et al. Repeated thermal therapy improves impaired vascular endothelial function in patients with coronary risk factors. *J Am Coll Cardiol*. 2001;38:1083-1088.
12. Kihara T, Biro S, Imamura M, et al. Repeated sauna treatment improves vascular endothelial and cardiac function in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39:754-759.
13. Ohori T, Nozawa T, Ichori H, et al. Effect of repeated sauna treatment on exercise tolerance and endothelial function in patients with chronic heart failure. *Am J Cardiol*. 2012;109:100-104.
14. Cheng JL, Au JS, MacDonald MJ. Peripheral artery endothelial function responses to altered shear stress patterns in humans. *Exp Physiol*. 2019;104:1126-1135.
15. Tinken TM, Thijssen DH, Hopkins N, et al. Impact of shear rate modulation on vascular function in humans. *Hypertension*. 2009;54:278-285.
16. Romero SA, Gagnon D, Adams AN, Cramer MN, Kouda K, Crandall CG. Acute limb heating improves macro- and microvascular dilator function in the leg of aged humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2017;312:H89-97.
17. Gravel H, Coombs GB, Behzadi P, et al. Acute effect of Finnish sauna bathing on brachial artery flow-mediated dilation and reactive hyperemia in healthy middle-aged and older adults. *Physiol Rep*. 2019;7:e14166.
18. Gayda M, Paillard F, Sosner P, et al. Effects of sauna alone and postexercise sauna baths on blood pressure and hemodynamic variables in patients with untreated hypertension. *J Clin Hypertens* 2012;14:553-560.
19. Laukkanen T, Kunutsor SK, Zaccardi F, et al. Acute effects of sauna bathing on cardiovascular function. *J Hum Hypertens*. 2018;32:129-138.

20. Radtke T, Poerschke D, Wilhelm M, et al. Acute effects of Finnish sauna and cold-water immersion on haemodynamic variables and autonomic nervous system activity in patients with heart failure. *Eur J Prev Cardiol.* 2016;23:593-601.
21. Cleland CL, Hunter RF, Kee F, Cupples ME, Sallis JF, Tully MA. Validity of the global physical activity questionnaire (GPAQ) in assessing levels and change in moderate-vigorous physical activity and sedentary behaviour. *BMC Public Health.* 2014;14:1255.
22. Thijssen DH, Black MA, Pyke KE, et al. Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2011;300:H2-12.
23. Ramanathan NL. A New Weighting System for Mean Surface Temperature of the Human Body. *J Appl Physiol.* 1964;19:531-533.
24. Inaba Y, Chen JA, Bergmann SR. Prediction of future cardiovascular outcomes by flow-mediated vasodilatation of brachial artery: a meta-analysis. *Int J Cardiovasc Imaging.* 2010;26:631-640.
25. Atkinson G, Batterham AM. The percentage flow-mediated dilation index: a large-sample investigation of its appropriateness, potential for bias and causal nexus in vascular medicine. *Vasc Med.* 2013;18:354-365.
26. Kunutsor SK, Hakkinen A, Zaccardi F, et al. Short-term effects of Finnish sauna bathing on blood-based markers of cardiovascular function in non-naive sauna users. *Heart and Vessels.* 2018;33:1515-1524.
27. Laukkanen T, Lipponen J, Kunutsor SK, et al. Recovery from sauna bathing favorably modulates cardiac autonomic nervous system. *Complement Ther Med.* 2019;45:190-197.
28. Lee E, Laukkanen T, Kunutsor SK, et al. Sauna exposure leads to improved arterial compliance: Findings from a non-randomised experimental study. *Eur J Prev Cardiol.* 2018;25:130-138.



29. Giannetti N, Juneau M, Arsenault A, et al. Sauna-induced myocardial ischemia in patients with coronary artery disease. *Am J Med.* 1999;107:228-233.
30. Vasan RS, Larson MG, Leip EP, et al. Impact of high-normal blood pressure on the risk of cardiovascular disease. *N Engl J Med.* 2001;345:1291-1297.
31. Vita JA, Keaney JF, Jr., Larson MG, et al. Brachial artery vasodilator function and systemic inflammation in the Framingham Offspring Study. *Circulation.* 2004;110:3604-3609.
32. Pedersen BK. Anti-inflammatory effects of exercise: role in diabetes and cardiovascular disease. *Eur J Clin Invest.* 2017;47:600-611.
33. Laukkanen JA, Laukkanen T. Sauna bathing and systemic inflammation. *Eur J Epidemiol.* 2018;33:351-353.

**Table 1. Participant characteristics.**

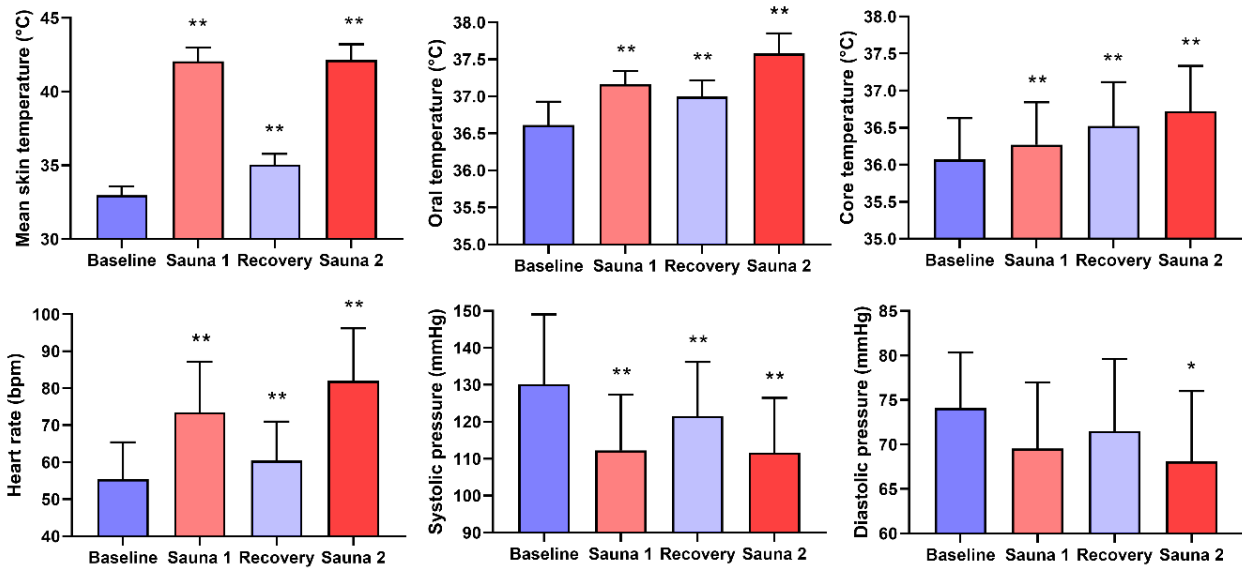
<b>Variable</b>	<b>Mean ± SD or N (%)</b>
Age (years)	66 ± 9
Sex (M/F)	20/2
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	29.9 ± 5.3
Systolic blood pressure (mmHg)	129 ± 13
Diastolic blood pressure (mmHg)	78 ± 6
Resting heart rate (bpm)	62 ± 12
Total cholesterol (mmol/L)	2.97 ± 0.67
HDL cholesterol (mmol/L)	1.23 ± 0.31
LDL cholesterol (mmol/L)	1.14 ± 0.35
Fasting glucose (mmol/L)	5.9 ± 1.9
HbA1c (%)	6.0 ± 0.9
Active smokers	0
CCS class (I/II/III/IV)	22/0/0/0
History of myocardial infarction	17 (77%)
History of PCI	20 (91%)
History of CABG	4 (18%)
Physical activity level (METs*min/week)	3332 ± 3143
Sedentary time (h/day)	7.0 ± 3.2
Sauna bathing frequency	
<1 session/week	18 (82%)
1-3 sessions/week	3 (14%)
≥3 sessions/week	1 (4%)
<b>Drug class</b>	<b>N (%)</b>
Statins	22 (100%)
Acetylsalicylic acid	21 (95%)
Antiplatelet agents	9 (41%)
β-blockers	15 (68%)
Calcium channel blockers	6 (27%)
ACE inhibitors	9 (41%)
Angiotensin II receptor blockers	5 (23%)
Diuretics	1 (5%)
Anticoagulants	1 (5%)
Hypoglycemic agents	6 (27%)

CCS: Canadian Cardiovascular Society; CABG: Coronary artery bypass graft; PCI: Percutaneous coronary intervention; SD: Standard deviation

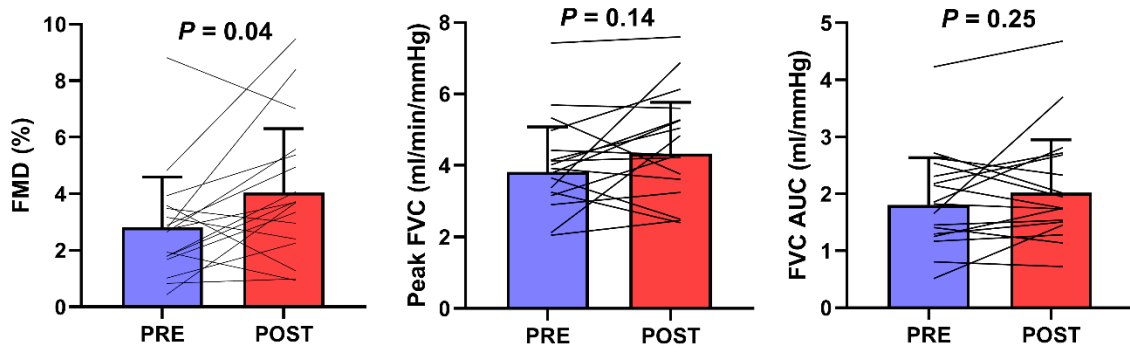
**Table 2. Physiological outcomes before (pre) and after (post) Finnish sauna bathing.**

<b>Variable</b>	<b>PRE</b>	<b>POST</b>	<b>P-value</b>
Mean skin temperature (°C)	33.0 ± 0.6	34.0 ± 0.8	<0.01
Oral temperature (°C)	36.6 ± 0.2	36.7 ± 0.2	0.06
Core temperature (°C)	36.28 ± 0.63	36.61 ± 0.71	<0.01
Systolic blood pressure (mmHg)	127 ± 17	117 ± 12	<0.01
Diastolic blood pressure (mmHg)	71 ± 9	69 ± 8	0.20
Heart rate (bpm)	55 ± 10	57 ± 10	0.22
Baseline diameter (mm)	4.85 ± 0.68	4.74 ± 0.77	0.16
Baseline antegrade shear rate (s <sup>-1</sup> )	66 ± 29	97 ± 40	<0.01
Baseline retrograde shear rate (s <sup>-1</sup> )	7 ± 7	3 ± 2	0.02
Baseline FVC (ml/min/mmHg)	0.87 ± 0.50	1.34 ± 0.53	<0.01
Peak dilation (mm)	0.13 ± 0.07	0.17 ± 0.08	0.03
FMD (%)	2.75 ± 1.81	3.96 ± 2.31	0.04
Time to peak dilation (s)	64 ± 35	74 ± 34	0.42
Peak shear rate (s <sup>-1</sup> )	276 ± 120	305 ± 114	0.14
Shear rate AUC (a.u.)	5772 ± 2760	6260 ± 3040	0.25
Peak FVC (ml/min/mmHg)	3.82 ± 1.26	4.33 ± 1.43	0.11
FVC AUC (ml/mmHg)	1.81 ± 0.83	2.02 ± 0.93	0.19

Data are mean ± SD for N=17; AUC: Area under the curve; FMD: Flow-mediated dilation; FVC: Forearm vascular conductance.



**Figure 1.** Thermoregulatory and hemodynamic variables during Finnish sauna bathing. Values are presented as mean  $\pm$  SD for N=22, except for core temperature where N=15, at baseline, at the 10<sup>th</sup> minute of the first bout of sauna (sauna 1), at the end of the recovery period outside the sauna (recovery) and at the 10<sup>th</sup> minute of the second bout of sauna (sauna 2). \*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$  for pairwise testing vs baseline (Sidak's adjustment).



**Figure 2.** Indices of vascular function measured before (pre) and after (post) Finnish sauna bathing. Values are presented as mean  $\pm$  SD and individual data for N=17. FMD: Flow-mediated dilation; FVC: Forearm vascular conductance; AUC, Area-under-the-curve. *P* values are for bilateral paired *t*-test.

## Chapitre 4- Discussion de thèse

### 4.1. Discussion

Certaines études animales ainsi que des études cliniques effectuées sur de jeunes adultes en santé suggèrent que l'exposition chronique à la chaleur pourrait améliorer la sensibilité à l'insuline et la fonction endothéliale. Cependant, les effets aigus de l'exposition à la chaleur, qui pourraient sous-tendre les effets à plus long terme, demeurent peu étudiés dans les populations aux prises avec des conditions cardiométaboliques. **L'objectif de cette thèse était donc d'évaluer l'effet aigu de l'exposition à la chaleur sur des marqueurs de la fonction cardiométabolique chez des adultes ayant un diabète de type 2 ou une maladie coronarienne.**

#### Synthèse des résultats obtenus

**Dans le cadre de l'article #1**, nous avons utilisé un bain thermoneutre (32°C) et un bain chaud (40°C) afin d'évaluer l'effet de la chaleur sur des marqueurs cardiométaboliques de personnes ayant un diabète de type 2. Notre étude était largement motivée par celle menée par Hooper (Hooper, 1999) qui a démontré un effet bénéfique de l'immersion en eau chaude sur la glycémie à jeun et l'hémoglobine glyquée dans une population ayant un diabète de type 2. Des études plus récentes avaient également utilisé une intervention d'immersion en eau chaude de 8 semaines. Ces études ont démontré une amélioration de la fonction endothéliale et microvasculaire de jeunes adultes sédentaires et de femmes ayant le syndrome des ovaires polykystiques (Brunt, Howard, et al., 2016; Ely, Clayton, et al., 2019). Nous avons donc utilisé l'immersion en eau chaude afin de s'aligner avec ces études antérieures et évaluer l'effet aigu de la chaleur sur la sensibilité à l'insuline et la fonction vasculaire de personnes ayant un diabète de type 2. Nous avons démontré que, malgré les réponses engendrées par l'immersion en eau chaude telles que l'augmentation de la température interne, de la contrainte de cisaillement et de la fréquence cardiaque, l'exposition aiguë à la chaleur n'a pas induite

d'amélioration des marqueurs cardiométaboliques de personnes ayant le diabète de type 2.

L'objectif primaire de l'article #1 était de déterminer si la sensibilité à l'insuline augmente 60 minutes après une immersion en eau chaude. Afin de répondre à cette hypothèse, nous avons utilisé comme variable primaire la sensibilité à l'insuline estimée selon le modèle *Oral Glucose Minimal Model*. La validité de ce modèle a été confirmée à l'aide de la clampe euglycémique-hyperinsulinémique (Dalla Man et al., 2005). Le délai de 60 minutes entre la fin de l'immersion et le test de tolérance au glucose a été choisi pour 3 raisons. Premièrement, ce délai était celui utilisé par l'étude sur laquelle nous sommes basés pour choisir le *Oral Minimal Model* comme variable primaire et pour estimer la taille d'échantillon (Rynders et al., 2014). Deuxièmement, d'après l'étude de Chung *et al.* (2008), la production de HSP augmente 2 à 8h après l'exposition à la chaleur. En utilisant un délai de 60 minutes après l'immersion, nous avons estimé que le pic de glucose durant le test de tolérance au glucose se produirait approximativement 2h après l'exposition à la chaleur ce qui concorde avec le minimum de temps requis pour l'augmentation de HSP observé dans l'étude de Chung *et al.* Troisièmement, ce délai représentait un compromis entre assurer un délai suffisant après l'exposition à la chaleur et une durée de protocole raisonnable pour les participants (chaque visite durait en moyenne 6h). En utilisant cette approche, nous n'avons pas observé de différence de sensibilité à l'insuline entre la condition thermoneutre et chaleur. De plus, des résultats semblables sont observés en calculant la sensibilité à l'insuline avec d'autres modèles validés (Stumvoll MCR, Gutt, Stumvoll ISI, OGIS, Belfiore, Cederholm, Matsuda), à l'exception des modèles Matsuda et OGIS qui démontrent que l'immersion en eau chaude diminue la sensibilité à l'insuline. Ces résultats suggèrent que si l'exposition à la chaleur a un effet aigu sur la sensibilité à l'insuline, il est peu probable que cet effet soit bénéfique. De plus, les résultats ne supportent pas la possibilité qu'une accumulation d'adaptations aiguës à la chaleur sous-tend les effets bénéfiques de la chaleur rapportés par des études antérieures qui ont utilisé des interventions de plusieurs semaines. Cela dit, il est possible

que les effets bénéfiques de l'exposition à la chaleur identifiés dans d'autres populations ne soient pas détectables chez les personnes ayant le diabète de type 2. Cette possibilité a été observée dans une étude animale où des souris nourries d'une diète riche en gras et intolérantes au glucose avaient une déficience de production de HSP72 dans le muscle squelettique à la suite d'une exposition à la chaleur comparée à des souris nourries d'une diète standard (Chung et al., 2008). Néanmoins, nos résultats supportent les observations d'une étude récemment publiée par James *et al.* ainsi qu'une étude antérieure menée par Rivas *et al.* (James et al., 2021, Rivas et al., 2016). Dans l'étude de Rivas, un test de tolérance au glucose a été effectué 24h après une immersion en eau chaude chez des personnes ayant le diabète de type 2. Les auteurs ont émis l'hypothèse que l'absence d'effet de la chaleur sur la tolérance au glucose s'expliquerait potentiellement par un délai trop long entre l'exposition à la chaleur et le test de tolérance au glucose. Pour évaluer cette hypothèse, James *et al.* ont testé 2 conditions en faisant le test de tolérance au glucose pendant une immersion en eau chaude et 30 minutes après une immersion en eau chaude. Les résultats ont démontré que, dans les deux cas, la glycémie lors du test de tolérance au glucose n'est pas différente de celle mesurée lorsque le test de tolérance au glucose est effectué en condition thermoneutre. En combinant les résultats de l'article #1 de cette thèse avec ceux de ces études antérieures, nous pouvons conclure que la chaleur n'a pas un effet aigu (30 min à 24h) sur la sensibilité à l'insuline de personnes ayant un diabète de type 2.

Nous avons également observé un maintien de la glycémie pendant l'immersion en eau chaude alors qu'elle a diminué lors du bain thermoneutre. Ce maintien de la glycémie pendant l'exposition à la chaleur pourrait être lié au fait que la chaleur augmente l'activité du système nerveux sympathique, ce qui stimule la gluconéogenèse ainsi que la glycolyse (Hargreaves et al., 1996). Une deuxième explication possible est que la chaleur augmente les concentrations plasmatiques d'adrénaline et de l'hormone de croissance, ce qui pourrait se traduire par une augmentation de la glycémie pendant l'immersion en



eau chaude (Leicht et al., 2019). Une troisième possibilité est que l'exposition à la chaleur artérialise les échantillons de sang veineux ce qui aurait pour effet d'augmenter les concentrations veineuses comparativement à la condition thermoneutre (Frayn et al., 1989).

L'objectif secondaire de l'article #1 était d'évaluer l'effet de l'immersion en eau chaude sur des marqueurs de la fonction vasculaire, puisque des études antérieures ont démontré des améliorations induites par la chaleur sur la dilatation produite par le flux (Naylor et al., 2011; Tinken et al., 2009). Plus précisément, l'effet bénéfique de l'exposition à la chaleur résulte d'une augmentation de la contrainte de cisaillement antérograde et d'une diminution de la contrainte de cisaillement rétrograde (Carter Howard et al., 2013; Tinken et al., 2009). Nous avons bien observé une augmentation de la contrainte de cisaillement antérograde et une diminution de la contrainte de cisaillement rétrograde pendant l'immersion et même 40 minutes après l'exposition à la chaleur. Malgré cela, la fonction endothéliale et la fonction microvasculaire n'ont pas été améliorées après l'immersion en eau chaude au sein de la population étudiée. La première raison qui pourrait expliquer les résultats observés est que les personnes ayant le diabète de type 2 répondent moins bien au stimulus thermique que de jeunes adultes en santé. Par exemple, Greyling *et al.* ont démontré que l'augmentation du débit sanguin de l'avant-bras lorsque ce dernier est immergé dans de l'eau chaude est moins prononcé chez des adultes ayant un diabète de type 2 par rapport à un groupe témoin en santé (Greyling et al., 2015). Cette observation est probablement due au fait que la vasodilatation cutanée lors de l'exposition à la chaleur est réduite chez les adultes ayant un diabète de type 2 (Petrofsky et al., 2012; Petrofsky et al., 2010; Sokolnicki et al., 2009). Néanmoins, l'augmentation du débit sanguin de l'avant-bras a prévenu la dysfonction endothéliale qui se produit normalement lors d'un test de tolérance au glucose chez les adultes ayant un diabète de type 2 (Greyling et al., 2015). Avant cette thèse, aucune étude n'avait

considéré l'effet de la chaleur sur la fonction endothéliale lors d'une exposition du corps entier chez des adultes ayant un diabète de type 2.

Une des hypothèses principales émises pour expliquer l'effet bénéfique de la chaleur sur les marqueurs cardiométaboliques est l'augmentation des HSP. Selon des études animales (Chung et al., 2008; Gupte et al., 2011), l'induction de HSP peut avoir plusieurs avantages thérapeutiques dans le traitement du diabète de type 2. En effet, ces études ont démontré qu'une augmentation des HSP diminue les marqueurs inflammatoires (NF $\kappa$ B, JNK, IKK) et augmente la sensibilité à l'insuline (IRS-1, AKT). Dans le cadre de l'étude #1, nous avons constaté que l'immersion en eau chaude ne modifie pas les concentrations circulantes et intracellulaires de HSP (70 et 90), les marqueurs inflammatoires (IL-6, IL-1RA et NF $\kappa$ B) ainsi que les médiateurs de la sécrétion et de l'action de l'insuline (GLP-1 et IRS-1). Selon ces résultats, il est possible que nous ayons manqué la fenêtre de temps à l'intérieur de laquelle les HSP sont produits. En effet, des études animales démontrent que la quantité de HSP se fait 4h après l'exposition à la chaleur (Yuan et al., 2017). Dans notre étude, nous avons mesuré les HSP jusqu'à 2h après l'exposition à la chaleur. De plus, l'absence d'expression des HSP peut s'expliquer par une différence importante entre les études animales et cliniques. Dans les études animales, le degré d'hyperthermie atteint lors du traitement thermique était une température centrale de 41 à 41.5°C, ce qui dépasse largement le niveau d'hyperthermie atteint dans le cadre d'études cliniques. Dans une étude publiée en 2001, des jeunes adultes en santé (22-29 ans) ont été immergés pendant 2h dans un bain d'eau chaude à 39.5°C. la température interne était au tour de 39.5°C tout au long de l'immersion. Après l'exposition à la chaleur, la concentration de HSP70 a été mesurée dans les monocytes (Oehler et al., 2001). Les résultats ont démontré que le HSP70 intracellulaire augmente après 2h d'immersion en eau chaude. En se basant sur cette étude, nous pouvons conclure que notre stimulus n'était peut-être pas suffisant pour induire l'expression de HSP70 et/ou 90. Par contre, il est important de noter que cette étude a été faite chez des

jeunes en santé et que la température corporelle a atteint 39°C après 40 minutes d'immersion et à 39°C à la fin des 2h, ce qui pourrait être difficilement tolérable dans une population âgée ayant un diabète de type 2. Néanmoins, nos résultats supportent plusieurs études antérieures n'ayant pas observé de changement au niveau de la concentration de HSP72 circulant et intracellulaire chez de jeunes adultes (Hoekstra et al., 2018; Whitham et al., 2007). Ainsi, on peut conclure que pour induire une augmentation de l'expression des HSP de façon aiguë, il est probable qu'une immersion plus longue ou qu'une augmentation de la température interne plus élevée que 38.5°C soit nécessaire. L'absence d'une augmentation des concentrations de HSP pourrait expliquer pourquoi nous n'avons pas vu d'améliorations au niveau de la sensibilité à l'insuline et de la fonction vasculaire.

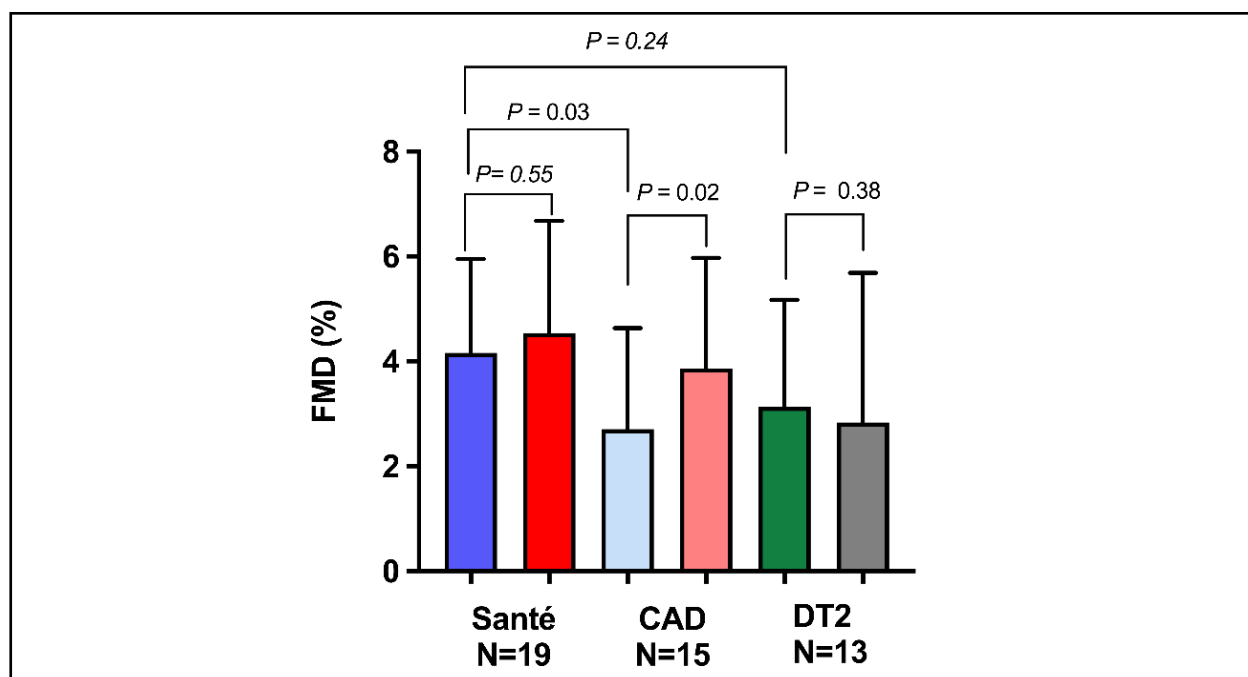
**Dans le cadre de l'article #2**, nous avons utilisé une séance de sauna Finlandais de 20 minutes pour évaluer l'effet aigu de la chaleur sur la fonction endothéliale et la fonction microvasculaire d'adultes ayant une maladie coronarienne. Ce choix a été motivé par une étude prospective ayant rapporté qu'une utilisation plus fréquente (>3 fois par semaine) et plus longue (>19 minutes) du sauna Finlandais était associée à un risque réduit de mortalité cardiaque par rapport à des utilisations moins fréquentes (1x semaine) ou moins longues (<19 minutes) (Laukkanen et al., 2015). Dans le cadre de l'étude #2, une séance typique de sauna Finlandais a entraîné une amélioration aiguë de la fonction endothéliale d'adultes ayant une maladie coronarienne. Cette amélioration de la dilatation médiée par le flux s'est produite malgré une concentration circulante d'IL-6 plus élevée à la suite de la séance de sauna. Il a été suggéré précédemment qu'une augmentation aiguë et modérée d'IL-6 exerce des effets anti-inflammatoires en stimulant la synthèse de l'IL-1RA qui s'oppose aux effets pro-inflammatoires du TNF- $\alpha$  et de l'IL-1 $\beta$  (Pedersen, 2017). De plus, nous n'avons pas observé un changement au niveau des marqueurs inflammatoires (CRP, TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$ , IL-8) après le bain sauna, montrant que l'augmentation d'IL-6 n'est pas associée à une réponse pro-inflammatoire généralisée.

### L'effet aigu de la chaleur sur la fonction endothéliale et les marqueurs inflammatoires

Un élément qui ressort lorsque l'on compare les résultats des deux articles ensemble est que la chaleur améliore la fonction endothéliale pour l'article #2 mais pas pour l'article #1. Nous avons donc voulu investiguer cette différence davantage en regroupant les résultats des deux études afin de les comparer à ceux d'une population en santé récoltés lors d'une étude de notre laboratoire (Gravel et al., 2019). Dans cette étude, nous avons démontré qu'une séance typique de sauna Finlandais (2 x 10 minutes) n'améliore pas la fonction endothéliale (mesurée par la technique de FMD) d'ainés en santé (âge moyen 66 ans) comparativement à une condition témoin (10 minutes de repos assis à l'extérieur du sauna).

En compilant les données de la dilatation produite par le flux des articles #1 et #2 avec cette étude, nous observons que les personnes ayant une maladie coronarienne ont une moins bonne fonction endothéliale au départ que des personnes en santé du même âge (Figure 23). L'exposition à la chaleur a cependant permis de ramener la dilatation produite par le flux dans cette population à des niveaux semblables à ce que l'on observe chez des personnes en santé du même âge. Ceci démontre que l'amplitude de l'augmentation de la dilatation produite par le flux avec le sauna chez les personnes ayant une maladie coronarienne est presque aussi importante que l'amplitude de leur déficit au repos versus les personnes en santé.

Au contraire, aucune amélioration de la fonction endothéliale n'est observée pour les personnes ayant le diabète de type 2 qui n'avaient pas une fonction endothéliale statistiquement différente de celle du groupe en santé. Ceci suggère que la fonction endothéliale des adultes ayant le diabète de type 2 était dans les valeurs normales. Ces résultats nous indiquent que l'effet aigu de la chaleur sur la fonction endothéliale dépend possiblement de la fonction endothéliale basale des participants.



**Figure 23 : Représentation graphique du pourcentage de dilatation produite par le flux (FMD) avant et après l'exposition à la chaleur chez des personnes en santé, ayant une maladie coronarienne ou ayant le diabète de type 2.** Le groupe de personnes en santé ( $66 \pm 7$  ans) et le groupe ayant une maladie coronarienne ( $66 \pm 9$  ans) ont été exposés à 20 minutes de sauna Finlandais. Le groupe de personnes ayant le diabète de type 2 ( $62 \pm 12$  ans) était immergé dans un bain chaud pendant 90 minutes.

Dans le cadre d'une autre étude antérieure menée au sein de notre laboratoire (Behzadi et al., 2020), nous avons mesuré plusieurs marqueurs inflammatoires (TNF- $\alpha$ , CRP, IL-1RA, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10) dans le sérum de personnes âgées en santé (âge moyen 66 ans). Les participants ont effectué 3 interventions dans un ordre aléatoire; 1) 1 x 10 min de sauna Finlandais (80 °C, 20 % d'humidité); 2) 2 x 10 min de sauna Finlandais ; 3) une condition témoin pendant laquelle les participants étaient assis à l'extérieur du sauna pendant 10 min (Behzadi et al., 2020). Dans la condition 2 x 10 min de sauna Finlandais la concentration moyenne d'IL-6 au repos était de 1.03 pg/mL et l'IL1-RA était de 334 pg/mL. Nous avons observé une augmentation significative d'IL-6 (1.95 pg/mL) et d'IL-1RA (364.96 pg/ml) après 20 minutes de sauna Finlandais, alors que les autres

marqueurs étudiés n'ont pas été affectés par l'exposition au sauna. En se basant sur cette étude, nous avons mesuré ces deux marqueurs dans l'article #1 et l'article #2. D'après une étude chez des personnes d'âge moyen en santé ( $57 \pm 9$  ans), la concentration d'IL-6 mesurée dans le sérum est d'environ 5 pg/ml et d'environ 9 pg/ml chez des personnes ayant un diabète de type 2 ( $57 \pm 8$ ) (Fadaei et al., 2020). Dans l'étude # 1, la concentration d'IL-6 moyenne de base était de 1.6 pg/mL et dans l'étude #2 la concentration était de 0.86 pg/mL. Tel que mentionné dans la revue de littérature, il a été suggéré qu'IL-6 a un rôle pléiotrope qui exerce à la fois des propriétés pro- et anti- inflammatoires. Par exemple, au niveau de la fonction endothéliale, une étude a démontré que les niveaux de base d'IL-6 sont négativement corrélés avec la dilatation produite par le flux (Vita et al., 2004). Cependant, l'impact d'une augmentation aiguë d'IL-6, tel que se produit avec l'exposition à la chaleur, sur la FMD a été moins étudié. Les résultats de l'article #2 suggèrent qu'une augmentation aiguë d'IL-6 n'est pas nécessairement associée à une réduction de la dilatation produite par le flux. Une étude antérieure a démontré que pendant l'exercice, l'augmentation d'IL-6 circulant déclenche une réponse anti-inflammatoire nette (Pedersen, 2017). En effet, son rôle anti-inflammatoire est associé à une augmentation de l'IL1-RA et une diminution de TNF- $\alpha$  (Pedersen, 2017). Il est possible qu'un phénomène similaire soit en jeu après l'exposition à la chaleur, quoique nous n'avons pas observé une augmentation de l'IL1-RA dans le cadre des 2 articles de cette thèse. Une des raisons qui pourraient expliquer l'absence d'une augmentation de l'IL1-RA après 20 minutes de sauna Finlandais serait que le stimulus n'était pas suffisant dans cette population pour induire une augmentation d'IL1-RA. En comparant les données à une étude antérieure de notre laboratoire (Behzadi et al., 2020), nous pouvons constater que 20 minutes de sauna Finlandais augmente d'environ 89% la concentration d'IL-6 pg/mL (PRE :  $1.03 \pm 0.73$ , POST :  $1.95 \pm 2.04$ ) chez des personnes âgées en santé, alors que chez les personnes atteintes d'une maladie coronarienne l'augmentation d'IL-6 était moins prononcée (37% ; PRE :  $0.85 \pm 0.89$ , POST :  $1.16 \pm 1.28$ ).

Nous avons choisi différentes modalités d'exposition à la chaleur en fonction des études antérieures qui ont été effectuées auprès de populations ayant le diabète de type 2 ou la maladie coronarienne. Premièrement, chez les personnes ayant le diabète de type 2, les études ont utilisé l'immersion en eau chaude (Hooper, 1999; Rivas et al., 2016). Chez les personnes atteintes d'une maladie coronarienne, nous avons utilisé le sauna Finlandais puisqu'une étude prospective avait déterminé le risque d'événements cardiovasculaires (mort subite d'origine cardiaque, maladies cardiovasculaires mortelles, maladie coronarienne mortelle et mortalité de toutes causes confondues) selon la fréquence et la durée d'utilisation du sauna Finlandais (Laukkanen et al., 2015). Cette modalité de chaleur a aussi été utilisée chez des personnes ayant une insuffisance cardiaque (Kihara et al., 2002). Donc, l'utilisation de l'immersion en eau chaude pour l'article #1 et du sauna Finlandais pour l'article #2 nous permettent de mettre en lien nos résultats avec ceux de ces études antérieures. Il est néanmoins possible que les résultats observés seraient différents si nous avions utilisé le sauna Finlandais pour l'article #1 et l'immersion en eau chaude pour l'article #2. Pour le moment, nous ne pouvons déterminer si les effets observés dans le cadre de chaque article sont propres à la modalité de chaleur utilisée et/ou à la population étudiée.

#### **4.2. Limites expérimentales de nos études**

Lors de l'interprétation des résultats de cette thèse, plusieurs limites sont à considérer. Premièrement, nous n'avons pas évalué directement la sensibilité à l'insuline dans le cadre de l'étude #1, mais nous l'avons estimée par des modèles qui ont été validés contre la mesure de référence de la sensibilité à l'insuline, c'est à dire la clamp euglycémique-hyperinsulinémique. Deuxièmement, nous n'avons pas inclus un groupe témoin de personnes en santé pour déterminer si l'absence d'effets de la chaleur est dû à la possibilité que les personnes ayant un diabète de type 2 répondent moins bien à un stimulus de chaleur. Troisièmement, les participants ne présentaient pas de complications graves liées au diabète de type 2 et leur glycémie était relativement bien contrôlée, ce qui

ne permet pas de généraliser nos résultats ayant un diabète plus sévère. Or, dans l'étude d'Hopper (Hooper., 1999) sur laquelle nous nous sommes basés, les participants avaient une glycémie plus élevée au départ (~10 mmol/L). Quatrièmement, les concentrations de HSP ont été quantifiées dans le plasma et au niveau des cellules mononuclées du sang périphérique plutôt que dans le muscle squelettique qui est le plus grand organe impliqué dans l'absorption du glucose. Cinquièmement, un nombre limité de marqueurs inflammatoires a été mesuré et ces marqueurs ainsi que les HSP n'ont pas été mesurés sur toute la période du test de tolérance au glucose. Sixièmement, les fonctions macro- et microvasculaire ont été évaluées environ 40 minutes après l'immersion dans l'eau chaude, ce qui ne permet pas de détecter une modification de la fonction vasculaire qui serait d'une durée plus courte suite à l'exposition à la chaleur.

Pour l'étude #2, nous n'avons pas inclus une condition témoin. Deuxièmement, les résultats ne permettent pas de conclure définitivement que l'amélioration observée de la dilatation médiée par le flux reflète une amélioration de la fonction endothéliale plutôt qu'une modification de la sensibilité du muscle lisse vasculaire, car nous n'avons pas effectué de mesure de la dilatation indépendante de l'endothélium. Troisièmement, nous avons mesuré la contrainte de cisaillement seulement avant et après, mais pas durant le sauna Finlandais. Comme dans l'étude #1, nous ne pouvons pas connaître l'effet immédiat de la chaleur sur les fonctions macro- et microvasculaire puisque ces dernières ont été mesurées environ 40 minutes après le sauna. Quatrièmement, les patients présentaient une maladie coronarienne stable et ont maintenu leur médication le jour de la visite expérimentale ce qui ne permet pas de généraliser les résultats à des patients ayant des complications de la maladie coronarienne, ni de déterminer si les résultats observés sont attribuables à une interaction entre la chaleur et la médication. Cinquièmement, un nombre limité de marqueurs inflammatoires a été mesuré et ces marqueurs n'ont pas été mesurés pendant que les participants étaient dans le sauna pour voir l'effet direct de la chaleur sur ceux-ci.



### **4.3. Prochaine étape**

Suite à ces études, il serait avantageux de déterminer si des expositions répétées à la chaleur (immersion en eau chaude ou sauna Finlandais) améliorent la sensibilité à l'insuline et/ou la fonction vasculaire de façon durable chez les adultes ayant un diabète de type 2 ou une maladie coronarienne. Il serait également intéressant d'évaluer si le sauna Finlandais, contrairement à ce que nous avons observé lors de l'immersion en eau chaude, peut avoir un effet bénéfique sur le contrôle de la glycémie chez les personnes ayant un diabète de type 2. Également, il serait préférable de mesurer la sensibilité à l'insuline en utilisant une clampé euglycémique-hyperinsulinémique qui est la méthode de référence pour mesurer la sensibilité à l'insuline. De plus, il serait important d'évaluer davantage de marqueurs inflammatoires (cytokine, adipokine, ROS, JNK, IKK) et les marqueurs liés à la dysfonction endothéliale (MCP-1, MMP, ET-1) ou métabolique (GLUT) tant au niveau de l'expression génique que la quantité de protéines dans le muscle squelettique. Il serait important de déterminer la concentration intracellulaire des HSP70 et 90 au niveau du muscle squelettique. Finalement, il serait intéressant de vérifier si l'immersion en eau chaude ou l'exposition au sauna Finlandais améliore la fonction vasculaire dans d'autres lits vasculaires (par exemple les artères fémorales) et d'évaluer d'autres marqueurs cliniques de la dysfonction vasculaire (la rigidité artérielle, la sensibilité du muscle lisse vasculaire).

### **4.4. Conclusion générale**

Nous pouvons conclure que l'exposition aiguë à la chaleur peut avoir des effets bénéfiques sur la fonction endothéliale chez une population ayant la maladie coronarienne. Par contre, il reste encore à évaluer si une exposition chronique à la chaleur (saunas répétés) peut avoir un effet durable sur la fonction endothéliale, afin de déterminer si le sauna Finlandais pourrait être une intervention valable en prévention secondaire chez les personnes ayant une maladie coronarienne. Chez une population ayant le diabète de type 2, la chaleur aiguë n'améliore pas la sensibilité à l'insuline ni la

fonction endothéliale. Des études futures sont nécessaires pour évaluer si une exposition répétée à la chaleur peut avoir un effet durable sur les marqueurs vasculaires ou métaboliques auprès de cette population.

## Bibliographie

- Aarsland, A., Chinkes, D., & Wolfe, R. R. (1997). Hepatic and whole-body fat synthesis in humans during carbohydrate overfeeding. *American Journal of Clinical Nutrition*, 65(6), 1774-1782.
- Agence de la santé publique du Canada. (2017). <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/publications/maladies-et-affections/diabete-canada-faitsaillants-systeme-surveillance-maladies-chroniques.html>.
- Agence de la santé publique du Canada. (2018). Rapport du Système canadien de surveillance des maladies chroniques : Les maladies du cœur au Canada, 2018. Ottawa, HP35-85/1-2017F-PDF(170308).
- Akerman, A. P., Thomas, K. N., van Rij, A. M., Body, E. D., Alfadhel, M., et al. (2019). Heat therapy vs. supervised exercise therapy for peripheral arterial disease: a 12-wk randomized, controlled trial. *American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology*, 316(6), H1495-H1506.
- Alali, M. H., Vianna, L. C., Lucas, R. A. I., Junejo, R. T., & Fisher, J. P. (2020). Impact of whole body passive heat stress and arterial shear rate modification on radial artery function in young men. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 129(6), 1373-1382.
- Albert, S. B., J.R. (1996). The NF- $\kappa$ B and I $\kappa$ B proteins: New Discoveries and Insights. *Annual Review of Immunology*, 14(1), 649-681.
- Alderton, W. K., Cooper, C. E., & Knowles, R. G. (2001). Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochemical Journal*, 357(Pt 3), 593-615.
- Andersen, L. B., Schnohr, P., Schroll, M., & Hein, H. O. (2000). All-cause mortality associated with physical activity during leisure time, work, sports, and cycling to work. *Archives of Internal Medicine*, 160(11), 1621-1628.
- Anderson, R. G., Kamen, B. A., Rothberg, K. G., & Lacey, S. W. (1992). Potocytosis: sequestration and transport of small molecules by caveolae. *Science*, 255(5043), 410-411.

- Ando, J., & Yamamoto, K. (2013). Flow detection and calcium signalling in vascular endothelial cells. *Cardiovascular Research*, 99(2), 260-268.
- Anisha, G., Bomhoff Gregory, Swerdlow Russell, & Geiger Paige C. (2009). Heat Treatment Improves Glucose Tolerance and Prevents Skeletal Muscle Insulin Resistance in Rats Fed a High-Fat Diet. *Diabetes*, 58(3), 567-578.
- Arborelius, M., Jr., Ballidin, U. I., Lilja, B., & Lundgren, C. E. (1972). Hemodynamic changes in man during immersion with the head above water. *Aerospace Medicine*, 43(6), 592-598.
- Aschenbach, J. R., Borau, T., & Gäbel, G. (2002). Glucose uptake via SGLT-1 is stimulated by beta(2)-adrenoceptors in the ruminal epithelium of sheep. *Journal of Nutrition*, 132(6), 1254-1257.
- Asea, A. (2007). Mechanisms of HSP72 release. *Journal of Biosciences*, 32(3), 579-584.
- Astl, L., Stetz, G., & Verkhivker, G. M. (2020). Allosteric Mechanism of the Hsp90 Chaperone Interactions with Cochaperones and Client Proteins by Modulating Communication Spines of Coupled Regulatory Switches: Integrative Atomistic Modeling of Hsp90 Signaling in Dynamic Interaction Networks. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 60(7), 3616-3631.
- Atalay, M., Oksala, N., Lappalainen, J., Laaksonen, D. E., Sen, C. K., et al. (2009). Heat shock proteins in diabetes and wound healing. *Curr Protein Pept Sci*, 10(1), 85-95.
- Bae, Y. S., Oh, H., Rhee, S. G., & Yoo, Y. D. (2011). Regulation of reactive oxygen species generation in cell signaling. *Molecules and Cells*, 32(6), 491-509.
- Baggio, L. L., & Drucker, D. J. (2007). Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology*, 132(6), 2131-2157.
- Bailey, C. J., & Grant, P. J. (1998). The UK Prospective Diabetes study. *The Lancet*, 352(9144), 1932.
- Ballermann, B. J., Dardik, A., Eng, E., & Liu, A. (1998). Shear stress and the endothelium. *Kidney International*, 67, S100-108.

- Banfield, D. K. (2011). Mechanisms of protein retention in the Golgi. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 3(8), a005264.
- Barbe, M., Tytell, M., Gower, D., & Welch, W. (1988). Hyperthermia protects against light damage in the rat retina. *Science*, 241(4874), 1817-1820.
- Bedard, K., & Krause, K. H. (2007). The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiological Reviews*, 87(1), 245-313.
- Behzadi, P., Gravel, H., Neagoe, P.-E., Barry, H., Sirois, M. G., et al. (2020). Impact of Finnish sauna bathing on circulating markers of inflammation in healthy middle-aged and older adults: A crossover study. *Complementary Therapies in Medicine*, 52, 102486.
- Bledsoe, B. E., Hertelendy, A., & Romig, L. E. (2003). Disorders of temperature regulation: prehospital implications. *JEMS: A Journal of Emergency Medical Services*, 28(3), 36-50.
- Boden, G., She, P., Mozzoli, M., Cheung, P., Gumireddy, K., et al. (2005). Free fatty acids produce insulin resistance and activate the proinflammatory nuclear factor-kappaB pathway in rat liver. *Diabetes*, 54(12), 3458-3465.
- Bonnington, J. K., & McNaughton, P. A. (2003). Signalling pathways involved in the sensitisation of mouse nociceptive neurones by nerve growth factor. *Journal of Physiology*, 551(Pt 2), 433-446.
- Bourque, S. L., Davidge, S. T., & Adams, M. A. (2011). The interaction between endothelin-1 and nitric oxide in the vasculature: new perspectives. *American Journal of Physiology: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 300(6), R1288-1295.
- Boussuges, A. (2006). Immersion in thermoneutral water: effects on arterial compliance. *Aviation Space and Environmental Medicine*, 77(11), 1183-1187.
- Bovell, D. (2015). The human eccrine sweat gland: structure, function and disorders. *Journal of Local and Global Health Science*, 2015(1): 5.

- Brock, J. A., & McAllen, R. M. (2016). Spinal cord thermosensitivity: An afferent phenomenon? *Temperature*, 3(2), 232-239.
- Bruce, C. R., Carey, A. L., Hawley, J. A., & Febbraio, M. A. (2003). Intramuscular heat shock protein 72 and heme oxygenase-1 mRNA are reduced in patients with type 2 diabetes: evidence that insulin resistance is associated with a disturbed antioxidant defense mechanism. *Diabetes*, 52(9), 2338-2345.
- Brunt, V. E., Eymann, T. M., Francisco, M. A., Howard, M. J., & Minson, C. T. (2016). Passive heat therapy improves cutaneous microvascular function in sedentary humans via improved nitric oxide-dependent dilation. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 121(3), 716-723.
- Brunt, V. E., Howard, M. J., Francisco, M. A., Ely, B. R., & Minson, C. T. (2016). Passive heat therapy improves endothelial function, arterial stiffness and blood pressure in sedentary humans. *Journal of Physiology*, 594(18), 5329-5342.
- Brunt, V. E., Jeckell, A. T., Ely, B. R., Howard, M. J., Thijssen, D. H., et al. (2016). Acute hot water immersion is protective against impaired vascular function following forearm ischemia-reperfusion in young healthy humans. *American Journal of Physiology: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 311(6), R1060-R1067.
- Buchner, J. (1999). Hsp90 & Co. - a holding for folding. *Trends in Biochemical Sciences*, 24(4), 136-141.
- Bukau, B., & Horwich, A. L. (1998). The Hsp70 and Hsp60 chaperone machines. *Cell*, 92(3), 351-366.
- Butler, A. E., Janson, J., Bonner-Weir, S., Ritzel, R., Rizza, R. A., et al. (2003). Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes*, 52(1), 102-110.
- Cai, D., Yuan, M., Frantz, D. F., Melendez, P. A., Hansen, L., et al. (2005). Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-beta and NF-kappaB. *Nature Medicine*, 11(2), 183-190.

- Candas, V., Libert, J. P., & Vogt, J. J. (1979). Human skin wettedness and evaporative efficiency of sweating. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*, 46(3), 522-528.
- Cao, R. N., Tang, L., Xia, Z. Y., & Xia, R. (2019). Endothelial glycocalyx as a potential therapeutic target in organ injuries. *Chinese Medical Journal*, 132(8), 963-975.
- Cardillo, C., Kilcoyne, C. M., Cannon, R. O., 3rd, & Panza, J. A. (2000). Interactions between nitric oxide and endothelin in the regulation of vascular tone of human resistance vessels in vivo. *Hypertension*, 35(6), 1237-1241.
- Carey, A. L., Steinberg, G. R., Macaulay, S. L., Thomas, W. G., Holmes, A. G., et al. (2006). Interleukin-6 Increases Insulin-Stimulated Glucose Disposal in Humans and Glucose Uptake and Fatty Acid Oxidation In Vitro via AMP-Activated Protein Kinase. *Diabetes*, 55(10), 2688-2697.
- Carter, H. H., Spence, A. L., Atkinson, C. L., Pugh, C. J., Naylor, L. H., et al. (2014). Repeated core temperature elevation induces conduit artery adaptation in humans. *European Journal of Applied Physiology*, 114(4), 859-865.
- Carter Howard, H., Dawson Ellen, A., Birk Gurpreet, K., Spence Angela, L., Naylor Louise, H., et al. (2013). Effect of SR Manipulation on Conduit Artery Dilation in Humans. *Hypertension*, 61(1), 143-150.
- Cerasi, E., Luft, R., & Efendic, S. (1972). Decreased sensitivity of the pancreatic beta cells to glucose in prediabetic and diabetic subjects. A glucose dose-response study. *Diabetes*, 21(4), 224-234.
- Chan, S. Y., Mancini, G. B., Kuramoto, L., Schulzer, M., Frohlich, J., et al. (2003). The prognostic importance of endothelial dysfunction and carotid atheroma burden in patients with coronary artery disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 42(6), 1037-1043.
- Chappell, D. C., Varner, S. E., Nerem, R. M., Medford, R. M., & Alexander, R. W. (1998). Oscillatory shear stress stimulates adhesion molecule expression in cultured human endothelium. *Circulation Research*, 82(5), 532-539.

- Chatterjee, S., Khunti, K., & Davies, M. J. (2017). Type 2 diabetes. *Lancet*, 389(10085), 2239-2251.
- Chelazzi, C., Villa, G., Mancinelli, P., De Gaudio, A. R., & Adembri, C. (2015). Glycocalyx and sepsis-induced alterations in vascular permeability. *Critical Care*, 19(1), 26.
- Cheng, A. Y. (2013). Canadian Diabetes Association 2013 clinical practice guidelines for the prevention and management of diabetes in Canada. Introduction. *Canadian Journal of Diabetes*, 37 (1), S1-3.
- Cheng, C. F., Fan, J., Fedesco, M., Guan, S., Li, Y., et al. (2008). Transforming growth factor alpha (TGFalpha)-stimulated secretion of HSP90alpha: using the receptor LRP-1/CD91 to promote human skin cell migration against a TGFbeta-rich environment during wound healing. *Molecular and Cellular Biology*, 28(10), 3344-3358.
- Choe, S. S., Huh, J. Y., Hwang, I. J., Kim, J. I., & Kim, J. B. (2016). Adipose Tissue Remodeling: Its Role in Energy Metabolism and Metabolic Disorders. *Frontiers in Endocrinology*, 13(7), 30.
- Chung, J., Nguyen, A.-K., Henstridge, D. C., Holmes, A. G., Chan, M. H. S., et al. (2008). HSP72 protects against obesity-induced insulin resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(5), 1739-1744.
- Chung, J., Nguyen, A. K., Henstridge, D. C., Holmes, A. G., Chan, M. H., et al. (2008). HSP72 protects against obesity-induced insulin resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(5), 1739-1744.
- Cinelli, M. A., Do, H. T., Miley, G. P., & Silverman, R. B. (2020). Inducible nitric oxide synthase: Regulation, structure, and inhibition. *Medicinal Research Reviews*, 40(1), 158-189.
- Claudia Goetsch, W. G., Alexandre Arsov , Lorenz C Hofbauer , Stefan R Bornstein , Henning Morawietz. (2009). Long-Term Cyclic Strain Downregulates Endothelial Nox4. *Antioxidants & Redox Signaling*, 11(10), 2385-2397.



- Clayton, A., Turkes, A., Navabi, H., Mason, M. D., & Tabi, Z. (2005). Induction of heat shock proteins in B-cell exosomes. *Journal of Cell Science*, 118(Pt 16), 3631-3638.
- Coombs, G. B., Tremblay, J. C., Shkredova, D. A., Carr, J., Wakeham, D. J., et al. (2021). Distinct contributions of skin and core temperatures to flow-mediated dilation of the brachial artery following passive heating. *Journal of applied physiology*, 130(1), 149-159.
- Corretti, M. C., Anderson, T. J., Benjamin, E. J., Celermajer, D., Charbonneau, F., et al. (2002). Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *Journal of the American College of Cardiology*, 39(2), 257-265.
- Crandall, C. G., & González-Alonso, J. (2010). Cardiovascular function in the heat-stressed human. *Acta Physiologica*, 199(4), 407-423.
- Crandall, C. G., Wilson, T. E., Marving, J., Vogelsang, T. W., Kjaer, A., et al. (2008). Effects of passive heating on central blood volume and ventricular dimensions in humans. *Journal of Physiology*, 586(1), 293-301.
- Cryer, P. E. (1992). Hypoglycemia of Obscure Cause. *Hospital Practice*, 27(8), 119-144.
- Dalla Man, C., Caumo, A., & Cobelli, C. (2002). The oral glucose minimal model: estimation of insulin sensitivity from a meal test. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 49(5), 419-429.
- Dalla Man, C., Yarasheski, K. E., Caumo, A., Robertson, H., Toffolo, G., et al. (2005). Insulin sensitivity by oral glucose minimal models: validation against clamp. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism*, 289(6), E954-959.
- Daugaard, M., Rohde, M., & Jäättelä, M. (2007). The heat shock protein 70 family: Highly homologous proteins with overlapping and distinct functions. *FEBS Letters*, 581(19), 3702-3710.

- De Caterina, R., Libby, P., Peng, H. B., Thannickal, V. J., Rajavashisth, T. B., et al. (1995). Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. *Journal of Clinical Investigation*, 96(1), 60-68.
- DeFronzo, R. A. (1988). Lilly lecture 1987. The triumvirate: beta-cell, muscle, liver. A collusion responsible for NIDDM. *Diabetes*, 37(6), 667-687.
- Denzer, K., Kleijmeer, M. J., Heijnen, H. F., Stoorvogel, W., & Geuze, H. J. (2000). Exosome: from internal vesicle of the multivesicular body to intercellular signaling device. *Journal of Cell Science*, 113(19), 3365-3374.
- Dhindsa, S., Tripathy, D., Mohanty, P., Ghanim, H., Syed, T., et al. (2004). Differential effects of glucose and alcohol on reactive oxygen species generation and intranuclear nuclear factor-kappaB in mononuclear cells. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 53(3), 330-334.
- Diabète Canada. (2021). Le diabète au Canada : Document d'information Ottawa, [https://www.diabetes.ca/DiabetesCanadaWebsite/media/Advocacy/andPolicy/Background/2021\\_Background\\_Canada\\_French\\_FINAL.pdf](https://www.diabetes.ca/DiabetesCanadaWebsite/media/Advocacy/andPolicy/Background/2021_Background_Canada_French_FINAL.pdf).
- Diabetes, C. (2016). *Report from the Canadian Diabetes Association: Diabetes in Canada, 2016*. 2016.
- Diabetes Prevention Program Research Group. (2002). The Diabetes Prevention Program (DPP): description of lifestyle intervention. *Diabetes Care*, 25(12), 2165-2171.
- Dinarello, C. A. (2000). The role of the interleukin-1-receptor antagonist in blocking inflammation mediated by interleukin-1. *New England Journal of Medicine*, 343(10), 732-734.
- Donnelly, R., Emslie-Smith, A. M., Gardner, I. D., & Morris, A. D. (2000). ABC of arterial and venous disease: vascular complications of diabetes. *BMJ*, 320(7241), 1062-1066.

- Dorris, S. L., & Peebles, R. S. (2012). PGI<sub>2</sub> as a Regulator of Inflammatory Diseases. *Mediators of Inflammation*, 2012, 926968.
- Dröge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 82(1), 47-95.
- Drucker, D. J. (2003). Glucagon-Like Peptide-1 and the Islet  $\beta$ -Cell: Augmentation of Cell Proliferation and Inhibition of Apoptosis. *Endocrinology*, 144(12), 5145-5148.
- Ellingsgaard, H., Hauselmann, I., Schuler, B., Habib, A. M., Baggio, L. L., et al. (2011). Interleukin-6 enhances insulin secretion by increasing glucagon-like peptide-1 secretion from L cells and alpha cells. *Nature Medicine*, 17(11), 1481-1489.
- Ely, B. R., Clayton, Z. S., McCurdy, C. E., Pfeiffer, J., Needham, K. W., et al. (2019). Heat therapy improves glucose tolerance and adipose tissue insulin signaling in polycystic ovary syndrome. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism*, 317(1), E172-E182.
- Ely, B. R., Francisco, M. A., Halliwill, J. R., Bryan, S. D., Comrada, L. N., et al. (2019). Heat therapy reduces sympathetic activity and improves cardiovascular risk profile in women who are obese with polycystic ovary syndrome. *American Journal of Physiology: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 317(5), R630-R640.
- Engelland; R, Hemingway; H, Tomasco;O, Olivencia-Yurvati ;A, & Romero; S. (2020). Acute lower leg hot water immersion protects macrovascular dilator function following ischaemia-reperfusion injury in humans. *Experimental Physiology*, 105(2), 302-311.
- Estruch, R., Ros, E., Salas-Salvadó, J., Covas, M. I., Corella, D., et al. (2018). Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet Supplemented with Extra-Virgin Olive Oil or Nuts. *New England Journal of Medicine*, 378(25), e34.
- Eustace, B., Sakurai, T., Stewart, J., Yimlamai, D., Unger, C., et al. (2004). Functional proteomic screens reveal an essential extracellular role for hsp90 in cancer cell invasiveness. *Nature Cell Biology*, 6(6), 507-514.

- Fadaei, R., Bagheri, N., Heidarian, E., Nouri, A., Hesari, Z., et al. (2020). Serum levels of IL-32 in patients with type 2 diabetes mellitus and its relationship with TNF- $\alpha$  and IL-6. *Cytokine*, 125, 154832.
- Fadel, A. A., Barbee, K. A., & Jaron, D. (2009). A Computational Model of Nitric Oxide Production and Transport in a Parallel Plate Flow Chamber. *Annals of Biomedical Engineering*, 37(5), 943-954.
- Faulkner, S. H., Jackson, S., Fatania, G., & Leicht, C. A. (2017). The effect of passive heating on heat shock protein 70 and interleukin-6: A possible treatment tool for metabolic diseases? *Temperature*, 4(3), 292-304.
- Feige, U., & Polla, B. S. (1994). Hsp70--a multi-gene, multi-structure, multi-function family with potential clinical applications. *Experientia*, 50(11-12), 979-986.
- Félétou, M., & Vanhoutte, P. M. (2006). Endothelial dysfunction: a multifaceted disorder (The Wiggers Award Lecture). *American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology*, 291(3), H985-1002.
- Fery, F., Paquot, Nicolas. (2005). Etiopathogénie et physiopathologie du diabète de type 2. *Revue Médicale de Liège*, <http://hdl.handle.net/2268/90456>.
- FID. (2019). Atlas du diabète de la fédération mondiale du diabète, 9ème édition. <https://diabetesatlas.org/en/sections/worldwide-toll-of-diabetes.html>.
- Filingeri, D. (2016). Neurophysiology of Skin Thermal Sensations. *Comprehensive Physiology*, 6(3), 1429.
- Fleming, I., & Busse, R. (1999). Signal transduction of eNOS activation. *Cardiovascular Research*, 43(3), 532-541.
- Folsom, A. R., Yatsuya, H., Nettleton, J. A., Lutsey, P. L., Cushman, M., et al. (2011). Community prevalence of ideal cardiovascular health, by the American Heart Association definition, and relationship with cardiovascular disease incidence. *Journal of the American College of Cardiology*, 57(16), 1690-1696.

- Fondation des maladies du cœur du Canada. (2003). Le fardeau croissant des maladies cardiovasculaires et des accidents vasculaires cérébraux au Canada, Ottawa, Canada.
- Fonseca, D., Antunes, P., & Cotrim, M. (2016). The Morphology, Physiology and Pathophysiology of Coronary Microcirculation. Chapter 2 (pp. 15-47).
- Forster, R. E., & Ferguson, T. B. (1952). Relationship between hypothalamic temperature and thermo-regulatory effectors in unanesthetized cat. *American Journal of Physiology*, 169(2), 255-269.
- Förstermann, U., & Münzel, T. (2006). Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease: from marvel to menace. *Circulation*, 113(13), 1708-1714.
- Francisco, M. A., Brunt, V. E., Jensen, K. N., Lorenzo, S., & Minson, C. T. (2017). Ten days of repeated local forearm heating does not affect cutaneous vascular function. *Journal of applied physiology*, 123(2), 310-316.
- Francisco, M. A., & Mison, C.T. (2018). Cutaneous active vasodilatation as a heat loss thermoeffector. *Handbook of Clinical neurology*, 156, 193-209.
- Frayn, K. N., Whyte, P. L., Benson, H. A., Earl, D. J., & Smith, H. A. (1989). Changes in forearm blood flow at elevated ambient temperature and their role in the apparent impairment of glucose tolerance. *Clinical Science*, 76(3), 323-328.
- Freedman, R. R., & Blacker, C. M. (2002). Estrogen raises the sweating threshold in postmenopausal women with hot flashes. *Fertility and Sterility*, 77(3), 487-490.
- Freemantle, N., Cleland, J., Young, P., Mason, J., & Harrison, J. (1999). beta Blockade after myocardial infarction: systematic review and meta regression analysis. *British Medical Association*, 318(7200), 1730-1737.
- Frostegård, J. (2013). Immunity, atherosclerosis and cardiovascular disease. *BMC Medicine*, 11(1), 117.
- Fuchs, D., Dupon, P. P., Schaap, L. A., & Draijer, R. (2017). The association between diabetes and dermal microvascular dysfunction non-invasively assessed by laser

- Doppler with local thermal hyperemia: a systematic review with meta-analysis. *Cardiovascular Diabetology*, 16(1), 11.
- Gagnon, D., & Crandall, C. G. (2018). Sweating as a heat loss thermoeffector. *Handbook of Clinical Neurology*, 156, 211-232.
- Galis, Z. S., Asanuma, K., Godin, D., & Meng, X. (1998). N-acetyl-cysteine decreases the matrix-degrading capacity of macrophage-derived foam cells: new target for antioxidant therapy? *Circulation*, 97(24), 2445-2453.
- Gallucci, S., Lolkema, M., & Matzinger, P. (1999). Natural adjuvants: endogenous activators of dendritic cells. *Nature Medicine*, 5(11), 1249-1255.
- García-Cardeña, G., Fan, R., Shah, V., Sorrentino, R., Cirino, G., et al. (1998). Dynamic activation of endothelial nitric oxide synthase by Hsp90. *Nature*, 392(6678), 821-824.
- Gaster, M., Poulsen, P., Handberg, A., Schroder, H. D., & Beck-Nielsen, H. (2000). Direct evidence of fiber type-dependent GLUT-4 expression in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism*, 278(5), E910-916.
- Gaster, M., Staehr, P., Beck-Nielsen, H., Schrøder, H. D., & Handberg, A. (2001). GLUT4 is reduced in slow muscle fibers of type 2 diabetic patients: is insulin resistance in type 2 diabetes a slow, type 1 fiber disease? *Diabetes*, 50(6), 1324-1329.
- Gastpar, R., Gehrman, M., Bausero, M. A., Asea, A., Gross, C., et al. (2005). Heat shock protein 70 surface-positive tumor exosomes stimulate migratory and cytolytic activity of natural killer cells. *Cancer Research*, 65(12), 5238-5247.
- Gedebjerg, A., Almdal, T. P., Berencsi, K., Rungby, J., Nielsen, J. S., et al. (2018). Prevalence of micro- and macrovascular diabetes complications at time of type 2 diabetes diagnosis and associated clinical characteristics: A cross-sectional baseline study of 6958 patients in the Danish DD2 cohort. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 32(1), 34-40.

- Geerling, J. C., Kim, M., Mahoney, C. E., Abbott, S. B., Agostinelli, L. J., et al. (2016). Genetic identity of thermosensory relay neurons in the lateral parabrachial nucleus. *American Journal of Physiology: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 310(1), R41-54.
- Ghosh, D. K., & Stuehr, D. J. (1995). Macrophage NO synthase: characterization of isolated oxygenase and reductase domains reveals a head-to-head subunit interaction. *Biochemistry*, 34(3), 801-807.
- Gibson, O. R., Tuttle, J. A., Watt, P. W., Maxwell, N. S., & Taylor, L. (2016). Hsp72 and Hsp90 $\alpha$  mRNA transcription is characterised by large, sustained changes in core temperature during heat acclimation. *Cell Stress and Chaperones*, 21(6), 1021-1035.
- Gilon, P. (2020). The Role of  $\alpha$ -Cells in Islet Function and Glucose Homeostasis in Health and Type 2 Diabetes. *Journal of Molecular Biology*, 432(5), 1367-1394.
- Gimbrone, M. A., Jr., & García-Cardena, G. (2016). Endothelial Cell Dysfunction and the Pathobiology of Atherosclerosis. *Circulation Research*, 118(4), 620-636.
- Girard, J., Ferré, P., & Foufelle, F. (1997). Mechanisms by which carbohydrates regulate expression of genes for glycolytic and lipogenic enzymes. *Annual Review of Nutrition*, 17, 325-352.
- Gleeson, M., Bishop, N. C., Stensel, D. J., Lindley, M. R., Mastana, S. S., et al. (2011). The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. *Nature Reviews: Immunology*, 11(9), 607-615.
- Gokce, N., Keaney, J. F., Jr., Hunter, L. M., Watkins, M. T., Nedeljkovic, Z. S., et al. (2003). Predictive value of noninvasively determined endothelial dysfunction for long-term cardiovascular events in patients with peripheral vascular disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 41(10), 1769-1775.
- Gong Q, Z. P., Wang J, Ma J, An Y, Chen Y, Zhang B, Feng X, Li H, Chen X, Cheng YJ, Gregg EW, Hu Y, Bennett PH, Li G; Da Qing Diabetes Prevention Study Group.

- (2019). Diabetes Prevention Study Group. Morbidity and mortality after lifestyle intervention for people with impaired glucose tolerance: 30-year results of the Da Qing Diabetes Prevention Outcome Study. *Lancet Diabetes Endocrinol, Jun;7(6):452-461*.
- González-Alonso, J., Crandall, C. G., & Johnson, J. M. (2008). The cardiovascular challenge of exercising in the heat. *Journal of Physiology, 586(1)*, 45-53.
- Gottlieb, S. S., & McCarter, R. J. (2001). Comparative effects of three beta blockers (atenolol, metoprolol, and propranolol) on survival after acute myocardial infarction. *American Journal of Cardiology, 87(7)*, 823-826.
- Gratton, J. P., Fontana, J., O'Connor, D. S., Garcia-Cardena, G., McCabe, T. J., et al. (2000). Reconstitution of an endothelial nitric-oxide synthase (eNOS), hsp90, and caveolin-1 complex in vitro. Evidence that hsp90 facilitates calmodulin stimulated displacement of eNOS from caveolin-1. *Journal of Biological Chemistry, 275(29)*, 22268-22272.
- Gravel, H., Coombs, G. B., Behzadi, P., Marcoux-Clément, V., Barry, H., et al. (2019). Acute effect of Finnish sauna bathing on brachial artery flow-mediated dilation and reactive hyperemia in healthy middle-aged and older adults. *Physiological Reports, 7(13)*, e14166.
- Greyling, A., Schreuder, T. H., Landman, T., Draijer, R., Verheggen, R. J., et al. (2015). Elevation in blood flow and shear rate prevents hyperglycemia-induced endothelial dysfunction in healthy subjects and those with type 2 diabetes. *Journal of applied physiology, 118(5)*, 579-585.
- Guengerich, F. P., & Macdonald, T. L. (1984). Chemical mechanisms of catalysis by cytochromes P-450: a unified view. *Accounts of Chemical Research, 17(1)*, 9-16.
- Gupte, A. A., Bomhoff, G. L., Touchberry, C. D., & Geiger, P. C. (2011). Acute heat treatment improves insulin-stimulated glucose uptake in aged skeletal muscle. *Journal of applied physiology, 110(2)*, 451-457.



- Halliwell, B. (1994). Free Radicals and Antioxidants: A Personal View. *Nutrition Reviews*, 52(8), 253-265.
- Hannuksela, M. L., & Ellahham, S. (2001). Benefits and risks of sauna bathing. *American Journal of Medicine*, 110(2), 118-126.
- Hargreaves, M., Angus, D., Howlett, K., Conus, N. M., & Febbraio, M. (1996). Effect of heat stress on glucose kinetics during exercise. *Journal of Applied Physiology*, 81(4), 1594-1597.
- Harris, M. B., Ju, H., Venema, V. J., Liang, H., Zou, R., et al. (2001). Reciprocal phosphorylation and regulation of endothelial nitric-oxide synthase in response to bradykinin stimulation. *Journal of Biological Chemistry*, 276(19), 16587-16591.
- Haslbeck, M., Franzmann, T., Weinfurtner, D., & Buchner, J. (2005). Some like it hot: the structure and function of small heat-shock proteins. *Nature Structural & Molecular Biology*, 12(10), 842-846.
- Hassan, F.-u., Nawaz, A., Rehman, M. S., Ali, M. A., Dilshad, S. M. R., et al. (2019). Prospects of HSP70 as a genetic marker for thermo-tolerance and immunomodulation in animals under climate change scenario. *Animal Nutrition*, 5(4), 340-350.
- Haverinen, M., Passinen, S., Syvala, H., Pasanen, S., Manninen, T., et al. (2001). Heat shock protein 90 and the nuclear transport of progesterone receptor. *Cell Stress and Chaperones*, 6(3), 256-262.
- Henry, R. M., Ferreira, I., Kostense, P. J., Dekker, J. M., Nijpels, G., et al. (2004). Type 2 diabetes is associated with impaired endothelium-dependent, flow-mediated dilation, but impaired glucose metabolism is not; The Hoorn Study. *Atherosclerosis*, 174(1), 49-56.
- Heran, B. S., Chen, J. M., Ebrahim, S., Moxham, T., Oldridge, N., et al. (2011). Exercise-based cardiac rehabilitation for coronary heart disease. *The Cochrane database of systematic reviews*, 2016(1), CD001800.

- Hink, U., Li, H., Mollnau, H., Oelze, M., Matheis, E., et al. (2001). Mechanisms underlying endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Circulation Research*, 88(2), E14-22.
- Hoekstra, S. P., Bishop, N. C., Faulkner, S. H., Bailey, S. J., & Leicht, C. A. (2018). Acute and chronic effects of hot water immersion on inflammation and metabolism in sedentary, overweight adults. *Journal of applied physiology*, 125(6), 2008-2018.
- Hooper, P. L. (1999). Hot-Tub Therapy for Type 2 Diabetes Mellitus. *New England Journal of Medicine*, 341(12), 924-925.
- Hozawa, A., Folsom, A. R., Sharrett, A. R., & Chambless, L. E. (2007). Absolute and attributable risks of cardiovascular disease incidence in relation to optimal and borderline risk factors: comparison of African American with white subjects--Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Archives of Internal Medicine*, 167(6), 573-579.
- Huang, A. L., Silver, A. E., Shvenke, E., Schopfer, D. W., Jahangir, E., et al. (2007). Predictive value of reactive hyperemia for cardiovascular events in patients with peripheral arterial disease undergoing vascular surgery. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 27(10), 2113-2119.
- Huang, F., Wong, X., & Jan, L. Y. (2012). International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXXV: calcium-activated chloride channels. *Pharmacological Reviews*, 64(1), 1-15.
- Huising, M. O. (2020). Paracrine regulation of insulin secretion. *Diabetologia*, 63(10), 2057-2063.
- Hunter, C. A., & Jones, S. A. (2015). IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. *Nature Immunology*, 16(5), 448-457.
- Huynh, D. T. N., & Heo, K. S. (2019). Therapeutic targets for endothelial dysfunction in vascular diseases. *Archives of Pharmacal Research*, 42(10), 848-861.
- Hwang, J., Ing, M. H., Salazar, A., Lassègue, B., Griendling, K., et al. (2003). Pulsatile versus oscillatory shear stress regulates NADPH oxidase subunit expression: implication for native LDL oxidation. *Circulation Research*, 93(12), 1225-1232.

- Imamura, M., Biro, S., Kihara, T., Yoshifuku, S., Takasaki, K., et al. (2001). Repeated thermal therapy improves impaired vascular endothelial function in patients with coronary risk factors. *Journal of the American College of Cardiology*, 38(4), 1083-1088.
- Imler, J. L., & Hoffmann, J. A. (2001). Toll receptors in innate immunity. *Trends in Cell Biology*, 11(7), 304-311.
- Inoue, N., & Sawamura, T. (2007). Lectin-like oxidized LDL receptor-1 as extracellular chaperone receptor: its versatile functions and human diseases. *Methods*, 43(3), 218-222.
- Jaattela, M., & Wissing, D. (1993). Heat-shock proteins protect cells from monocyte cytotoxicity: possible mechanism of self-protection. *Journal of Experimental Medicine*, 177(1), 231-236.
- Jafarnejad, M., Cromer, W. E., Kaunas, R. R., Zhang, S. L., Zawieja, D. C., et al. (2015). Measurement of shear stress-mediated intracellular calcium dynamics in human dermal lymphatic endothelial cells. *American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology*, 308(7), H697-706.
- Jager, J., Grémeaux, T., Cormont, M., Le Marchand-Brustel, Y., & Tanti, J. F. (2007). Interleukin-1beta-induced insulin resistance in adipocytes through down-regulation of insulin receptor substrate-1 expression. *Endocrinology*, 148(1), 241-251.
- Jin, X., Wang, R., Xiao, C., Cheng, L., Wang, F., et al. (2004). Serum and lymphocyte levels of heat shock protein 70 in aging: a study in the normal Chinese population. *Cell Stress and Chaperones*, 9(1), 69-75.
- Jin, Y., & Zheng, B. (2019). Multitasking: Dual Leucine Zipper-Bearing Kinases in Neuronal Development and Stress Management. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 35, 501-521.
- Johnson, B. D., Schumacher, R. J., Ross, E. D., & Toft, D. O. (1998). Hop modulates Hsp70/Hsp90 interactions in protein folding. *Journal of Biological Chemistry*, 273(6), 3679-3686.

- Johnson, J. D., & Fleshner, M. (2006). Releasing signals, secretory pathways, and immune function of endogenous extracellular heat shock protein 72. *Journal of Leukocyte Biology*, 79(3), 425-434.
- Johnson, J. L. (2012). Evolution and function of diverse Hsp90 homologs and cochaperone proteins. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1823(3), 607-613.
- Johnson, J. M., Brengelmann, G. L., Hales, J. R., Vanhoutte, P. M., & Wenger, C. B. (1986). Regulation of the cutaneous circulation. *Federation Proceedings*, 45(13), 2841-2850.
- Jose, A. D., Stitt, F., & Collison, D. (1970). The effects of exercise and changes in body temperature on the intrinsic heart rate in man. *American Heart Journal*, 79(4), 488-498.
- Juge-Aubry, C. E., Somm, E., Chicheportiche, R., Burger, D., Pernin, A. s., et al. (2004). Regulatory Effects of Interleukin (IL)-1, Interferon- $\beta$ , and IL-4 on the Production of IL-1 Receptor Antagonist by Human Adipose Tissue. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(6), 2652-2658.
- Kandel, E., Schwartz, JH, Jessell, TM, Siegelbaum, SA & Hudspeth, AJ (2013). Principles of Neural Science *McGraw-Hill Companies*.
- Kang, D., Choe, C., & Kim, D. (2005). Thermosensitivity of the two-pore domain K<sup>+</sup> channels TREK-2 and TRAAK. *Journal of Physiology*, 564(1), 103-116.
- Karagöz, G. E., Duarte, A. M., Akoury, E., Ippel, H., Biernat, J., et al. (2014). Hsp90-Tau complex reveals molecular basis for specificity in chaperone action. *Cell*, 156(5), 963-974.
- Kastorini, C. M., Panagiotakos, D. B., Chrysohoou, C., Georgousopoulou, E., Pitaraki, E., et al. (2016). Metabolic syndrome, adherence to the Mediterranean diet and 10-year cardiovascular disease incidence: The ATTICA study. *Atherosclerosis*, 246, 87-93.

- Kellogg, D. L., Jr., Liu, Y., Kosiba, I. F., & O'Donnell, D. (1999). Role of nitric oxide in the vascular effects of local warming of the skin in humans. *Journal of applied physiology*, 86(4), 1185-1190.
- Kellogg Jr, D. L., Zhao, J. L., & Wu, Y. (2008). Neuronal nitric oxide synthase control mechanisms in the cutaneous vasculature of humans in vivo. *The Journal of Physiology*, 586(3), 847-857.
- Kieser, T. M., Head, S. J., & Kappetein, A. P. (2013). Arterial grafting and complete revascularization: challenge or compromise? *Current Opinion in Cardiology*, 28(6), 646-653.
- Kihara, T., Biro, S., Imamura, M., Yoshifuku, S., Takasaki, K., et al. (2002). Repeated sauna treatment improves vascular endothelial and cardiac function in patients with chronic heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*, 39(5), 754-759.
- Kim, M. C., Kini, A., & Sharma, S. K. (2002). Refractory angina pectoris. *Journal of the American College of Cardiology*, 39(6), 923-934.
- Klingenspor, M. (2003). Cold-induced recruitment of brown adipose tissue thermogenesis. *Experimental Physiology*, 88(1), 141-148.
- Knowler, W. C., Barrett-Connor, E., Fowler, S. E., Hamman, R. F., Lachin, J. M., et al. (2002). Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *New England Journal of Medicine*, 346(6), 393-403.
- Kohara, K., Tabara, Y., Ochi, M., Okada, Y., Ohara, M., et al. (2018). Habitual hot water bathing protects cardiovascular function in middle-aged to elderly Japanese subjects. *Scientific Reports*, 8(1), 8687.
- Kohn, J. C., Lampi, M. C., & Reinhart-King, C. A. (2015). Age-related vascular stiffening: causes and consequences. *Front Genet*, 6, 112.
- Kokkinos, P. F., Giannelou, A., Manolis, A., & Pittaras, A. (2009). Physical activity in the prevention and management of high blood pressure. *Hellenic Journal of Cardiology. Hellenike Kardiologike Epitheorese*, 50(1), 52-59.

- Kokura, S., Adachi, S., Manabe, E., Mizushima, K., Hattori, T., et al. (2007). Whole body hyperthermia improves obesity-induced insulin resistance in diabetic mice. *International Journal of Hyperthermia*, 23(3), 259-265.
- Kolber, M. R., & Scrimshaw, C. (2014). Family history of cardiovascular disease. *Canadian Family Physician*, 60(11), 1016.
- Kooy, A., de Jager, J., Lehert, P., Bets, D., Wulffelé, M. G., et al. (2009). Long-term effects of metformin on metabolism and microvascular and macrovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Archives of Internal Medicine*, 169(6), 616-625.
- Koster, J. C., Permutt, M. A., & Nichols, C. G. (2005). Diabetes and Insulin Secretion: the ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel (KATP) connection. *Diabetes*, 54(11), 3065-3072.
- Krause, M., Bock, P. M., Takahashi, H. K., Homem De Bittencourt, P. I., Jr., & Newsholme, P. (2015). The regulatory roles of NADPH oxidase, intra- and extra-cellular HSP70 in pancreatic islet function, dysfunction and diabetes. *Clinical Science*, 128(11), 789-803.
- Krist, A. H., Davidson, K. W., Mangione, C. M., Barry, M. J., Cabana, M., et al. (2020). Behavioral Counseling Interventions to Promote a Healthy Diet and Physical Activity for Cardiovascular Disease Prevention in Adults With Cardiovascular Risk Factors: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *JAMA*, 324(20), 2069-2075.
- Kurucz, I., Morva, A., Vaag, A., Eriksson, K. F., Huang, X., et al. (2002). Decreased expression of heat shock protein 72 in skeletal muscle of patients with type 2 diabetes correlates with insulin resistance. *Diabetes*, 51(4), 1102-1109.
- Kyrou, I., & Tsigos, C. (2009). Obesity in the elderly diabetic patient: is weight loss beneficial? No. *Diabetes Care*, 32(2), S403-409.
- Lakatta, E. G. (2000). Cardiovascular aging in health. *Clinics in Geriatric Medicine*, 16(3), 419-444.

- Lakatta, E. G., & Levy, D. (2003). Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part II: the aging heart in health: links to heart disease. *Circulation*, *107*(2), 346-354.
- Lancaster, G. I., & Febbraio, M. A. (2005). Exosome-dependent trafficking of HSP70: a novel secretory pathway for cellular stress proteins. *Journal of Biological Chemistry*, *280*(24), 23349-23355.
- Laukkanen, T., Khan, H., Zaccardi, F., & Laukkanen, J. A. (2015). Association between sauna bathing and fatal cardiovascular and all-cause mortality events. *JAMA Internal Medicine*, *175*(4), 542-548.
- Leach, M. D., Klipp, E., Cowen, L. E., & Brown, A. J. (2012). Fungal Hsp90: a biological transistor that tunes cellular outputs to thermal inputs. *Nature Reviews: Microbiology*, *10*(10), 693-704.
- Leahy, J. L. (2005). Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Archives of Medical Research*, *36*(3), 197-209.
- Lee, E., Laukkanen, T., Kunutsor, S. K., Khan, H., Willeit, P., et al. (2018). Sauna exposure leads to improved arterial compliance: Findings from a non-randomised experimental study. *European Journal of Preventive Cardiology*, *25*(2), 130-138.
- Leicht, C. A., James, L. J., Briscoe, J. H. B., & Hoekstra, S. P. (2019). Hot water immersion acutely increases postprandial glucose concentrations. *Physiological reports Rep*, *7*(20), e14223.
- Leon, A. S., Rice, T., Mandel, S., Després, J. P., Bergeron, J., et al. (2000). Blood lipid response to 20 weeks of supervised exercise in a large biracial population: the HERITAGE Family Study. *Metabolism: Clinical and Experimental*, *49*(4), 513-520.
- Ley, K., Miller, Y. I., & Hedrick, C. C. (2011). Monocyte and macrophage dynamics during atherogenesis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, *31*(7), 1506-1516.

- Li, G., Zhang, P., Wang, J., Gregg, E. W., Yang, W., et al. (2008). The long-term effect of lifestyle interventions to prevent diabetes in the China Da Qing Diabetes Prevention Study: a 20-year follow-up study. *Lancet*, 371(9626), 1783-1789.
- Li, M., Stenmark, K. R., Shandas, R., & Tan, W. (2009). Effects of pathological flow on pulmonary artery endothelial production of vasoactive mediators and growth factors. *Journal of Vascular Research*, 46(6), 561-571.
- Li, W., Li, Y., Guan, S., Fan, J., Cheng, C. F., et al. (2007). Extracellular heat shock protein-90alpha: linking hypoxia to skin cell motility and wound healing. *EMBO Journal*, 26(5), 1221-1233.
- Libby, P., Pasterkamp, G., Crea, F., & Jang, I. K. (2019). Reassessing the Mechanisms of Acute Coronary Syndromes. *Circulation Research*, 124(1), 150-160.
- Limberg, J. K., Casey, D. P., Trinity, J. D., Nicholson, W. T., Wray, D. W., et al. (2020). Assessment of resistance vessel function in human skeletal muscle: guidelines for experimental design, Doppler ultrasound, and pharmacology. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 318(2), H301-H325.
- Lindsey K. K., Prasanta. T. (2020). Physiology, Heat Loss. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*.
- Lipsombe L, B. G., Butalia S, Dasgupta K, et al. (2018). Diabetes Canada 2018 Clinical Practice Guidelines for the Prevention and Management of Diabetes in Canada: Pharmacologic Glycemic Management of Type 2 Diabetes in Adults. *Can J Diabetes* 42(1):S88-S103.
- Lomax, P., Malveaux, E., & Smith, R. E. (1964). Brain temperatures in the rat during exposure to low environmental temperatures. *American Journal of Physiology*, 207, 736-739.
- Low, P. A. (2004). Evaluation of sudomotor function. *Clinical Neurophysiology*, 115(7), 1506-1513.
- Madden, C. J., & Morrison, S. F. (2019). Central nervous system circuits that control body temperature. *Neuroscience Letters*, 696, 225-232.



- Magnan, C., & Ktorza, A. (2005). Production et sécrétion de l'insuline par la cellule  $\beta$  pancréatique. *EMC - Endocrinologie*, 10, 241-264.
- Maillard, L., Desveaux, B., & Quilliet, L. (1999). [Balloon angioplasty]. *Archives des Maladies du Coeur et des Vaisseaux*, 92(11), 1539-1549.
- Mandadi, S., Sokabe, T., Shibasaki, K., Katanosaka, K., Mizuno, A., et al. (2009). TRPV3 in keratinocytes transmits temperature information to sensory neurons via ATP. *Pflügers Archiv. European Journal of Physiology*, 458(6), 1093-1102.
- Marber, M. S., Mestril, R., Chi, S. H., Sayen, M. R., Yellon, D. M., et al. (1995). Overexpression of the rat inducible 70-kD heat stress protein in a transgenic mouse increases the resistance of the heart to ischemic injury. *Journal of Clinical Investigation*, 95(4), 1446-1456.
- Mari, A., Tura, A., Natali, A., Laville, M., Laakso, M., et al. (2010). Impaired beta cell glucose sensitivity rather than inadequate compensation for insulin resistance is the dominant defect in glucose intolerance. *Diabetologia*, 53(4), 749-756.
- Martinac, B. (2004). Mechanosensitive ion channels: molecules of mechanotransduction. *Journal of Cell Science*, 117(12), 2449-2460.
- Maruhashi, T., Soga, J., Fujimura, N., Idei, N., Mikami, S., et al. (2013). Nitroglycerine-Induced Vasodilation for Assessment of Vascular Function. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 33(6), 1401-1408.
- Maruthur, N. M., Tseng, E., Hutfless, S., Wilson, L. M., Suarez-Cuervo, C., et al. (2016). Diabetes Medications as Monotherapy or Metformin-Based Combination Therapy for Type 2 Diabetes: A Systematic Review and Meta-analysis. *Annals of Internal Medicine*, 164(11), 740-751.
- Masuda, A., Miyata, M., Kihara, T., Minagoe, S., & Tei, C. (2004). Repeated sauna therapy reduces urinary 8-epi-prostaglandin F(2 $\alpha$ ). *Japanese Heart Journal*, 45(2), 297-303.

- McCord, G. R., Cracowski, J.-L., & Minson, C. T. (2006). Prostanoids contribute to cutaneous active vasodilation in humans. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 291(3), R596-R602.
- McNally, J. S., Davis, M. E., Giddens, D. P., Saha, A., Hwang, J., et al. (2003). Role of xanthine oxidoreductase and NAD(P)H oxidase in endothelial superoxide production in response to oscillatory shear stress. *American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology*, 285(6), H2290-2297.
- Meneilly, G. S., Knip, A., & Tessier, D. (2013). Le diabète chez les personnes âgées. *Canadian Journal of Diabetes*, 37(5), S567-S574.
- Michiels, C. (2003). Endothelial cell functions. *Journal of Cellular Physiology*, 196(3), 430-443.
- Milne, K. J., & Noble, E. G. (2002). Exercise-induced elevation of HSP70 is intensity dependent. *Journal of Applied Physiology*, 93(2), 561-568.
- Minami, Y., Kawasaki, H., Suzuki, K., & Yahara, I. (1993). The calmodulin-binding domain of the mouse 90-kDa heat shock protein. *Journal of Biological Chemistry*, 268(13), 9604-9610.
- Minson, C. T., Wladkowski, S. L., Pawelczyk, J. A., & Kenney, W. L. (1999). Age, splanchnic vasoconstriction, and heat stress during tilting. *American Journal of Physiology*, 276(1 Pt 2), R203-212.
- Mokdad, A. H., Ford, E. S., Bowman, B. A., Dietz, W. H., Vinicor, F., et al. (2003). Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors, 2001. *JAMA*, 289(1), 76-79.
- Moncada, S., & Higgs, A. (1993). The L-Arginine-Nitric Oxide Pathway. *New England Journal of Medicine*, 329(27), 2002-2012.
- Montagnani, M., Golovchenko, I., Kim, I., Koh, G. Y., Goalstone, M. L., et al. (2002). Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase enhances mitogenic actions of insulin in endothelial cells. *Journal of Biological Chemistry*, 277(3), 1794-1799.

- Montagnani, M., Ravichandran, L. V., Chen, H., Esposito, D. L., & Quon, M. J. (2002). Insulin receptor substrate-1 and phosphoinositide-dependent kinase-1 are required for insulin-stimulated production of nitric oxide in endothelial cells. *Molecular Endocrinology*, 16(8), 1931-1942.
- Morimoto, R. I. (1991). Heat shock: the role of transient inducible responses in cell damage, transformation, and differentiation. *Cancer Cells*, 3(8), 295-301.
- Morrison, S. F., & Nakamura, K. (2019). Central Mechanisms for Thermoregulation. *Annual Review of Physiology*, 81, 285-308.
- Moseley, P. L. (1997). Heat shock proteins and heat adaptation of the whole organism. *Journal of applied physiology*, 83(5), 1413-1417.
- Mullen, M. J., Kharbanda, R. K., Cross, J., Donald, A. E., Taylor, M., et al. (2001). Heterogenous Nature of Flow-Mediated Dilatation in Human Conduit Arteries In Vivo. *Circulation Research*, 88(2), 145-151.
- Muller, W. A. (2013). Getting leukocytes to the site of inflammation. *Veterinary Pathology*, 50(1), 7-22.
- Muniyappa, R., Montagnani, M., Koh, K. K., & Quon, M. J. (2007). Cardiovascular actions of insulin. *Endocrine Reviews*, 28(5), 463-491.
- Nathan, D. M., Genuth, S., Lachin, J., Cleary, P., Crofford, O., et al. (1993). The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine*, 329(14), 977-986.
- Nauck, M. A., Holst, J. J., Willms, B., & Schmiegel, W. (1997). Glucagon-like peptide 1 (GLP-1) as a new therapeutic approach for type 2-diabetes. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*, 105(4), 187-195.
- Naylor, L. H., Carter, H., FitzSimons, M. G., Cable, N. T., Thijssen, D. H., et al. (2011). Repeated increases in blood flow, independent of exercise, enhance conduit artery vasodilator function in humans. *American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology*, 300(2), H664-669.

- Nieuwdorp, M., van Haefen, T. W., Gouverneur, M. C. L. G., Mooij, H. L., van Lieshout, M. H. P., et al. (2006). Loss of Endothelial Glycocalyx During Acute Hyperglycemia Coincides With Endothelial Dysfunction and Coagulation Activation In Vivo. *Diabetes*, 55(2), 480-486.
- Norm Campbell. et al. (2011). Hypertension in people with type 2 diabetes. *Can Fam Physician*, 57(9): e347–e353.
- Oehler, R., Pusch, E., Zellner, M., Dungal, P., Hergovics, N., et al. (2001). Cell type-specific variations in the induction of hsp70 in human leukocytes by feverlike whole body hyperthermia. *Cell Stress and Chaperones*, 6(4), 306-315.
- Oldridge, N. (2012). Exercise-based cardiac rehabilitation in patients with coronary heart disease: meta-analysis outcomes revisited. *Future cardiology*, 8(5), 729-751.
- OMS. (2007). Prévention des maladies cardiovasculaires. <https://www.who.int/publications/list/cardio-pocket-guide-fr.pdf?ua=1>
- OMS. (2020)., <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>(accessed)
- Otten, J., Ahrén, B., & Olsson, T. (2014). Surrogate measures of insulin sensitivity vs the hyperinsulinaemic–euglycaemic clamp: a meta-analysis. *Diabetologia*, 57(9), 1781-1788.
- Ozkor, M. A., & Quyyumi, A. A. (2011). Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor and Vascular Function. *Cardiology Research and Practice*, 2011, 156146.
- Pack, Q. R., Goel, K., Lahr, B. D., Greason, K. L., Squires, R. W., et al. (2013). Participation in cardiac rehabilitation and survival after coronary artery bypass graft surgery: a community-based study. *Circulation*, 128(6), 590-597.
- Paine, N., Hinderliter, A., Blumenthal, J., Adams, K., Sueta, C., et al. (2016). Reactive hyperemia is associated with adverse clinical outcomes in heart failure. *American Heart Journal*, 178, 108-114.
- Pall, M. L. (2007). Nitric oxide synthase partial uncoupling as a key switching mechanism for the NO/ONOO- cycle. *Medical Hypotheses*, 69(4), 821-825.

- Pallubinsky, H., Phielix, E., Dautzenberg, B., Schaart, G., Connell, N. J., et al. (2020). Passive exposure to heat improves glucose metabolism in overweight humans. *Acta Physiologica*, 229(4), e13488.
- Panaretou, B., Prodromou, C., Roe, S. M., O'Brien, R., Ladbury, J. E., et al. (1998). ATP binding and hydrolysis are essential to the function of the Hsp90 molecular chaperone in vivo. *EMBO Journal*, 17(16), 4829-4836.
- Patterson, S. W., Piper, H., & Starling, E. H. (1914). The regulation of the heart beat. *Journal of Physiology*, 48(6), 465-513.
- Patterson, S. W., & Starling, E. H. (1914). On the mechanical factors which determine the output of the ventricles. *Journal of Physiology*, 48(5), 357-379.
- Pavlou, D. I., Paschou, S. A., Anagnostis, P., Spartalis, M., Spartalis, E., et al. (2018). Hypertension in patients with type 2 diabetes mellitus: Targets and management. *Maturitas*, 112, 71-77.
- Pedersen, B. K. (2017). Anti-inflammatory effects of exercise: role in diabetes and cardiovascular disease. *European Journal of Clinical Investigation*, 47(8), 600-611.
- Pedersen, B. K., & Febbraio, M. A. (2007). Point: Interleukin-6 does have a beneficial role in insulin sensitivity and glucose homeostasis. *Journal of applied physiology*, 102(2), 814-816.
- Peier, A. M., Reeve, A. J., Andersson, D. A., Moqrich, A., Earley, T. J., et al. (2002). A heat-sensitive TRP channel expressed in keratinocytes. *Science*, 296(5575), 2046-2049.
- Pernicova, I., & Korbonits, M. (2014). Metformin--mode of action and clinical implications for diabetes and cancer. *Nature Reviews: Endocrinology*, 10(3), 143-156.
- Petrofsky, J., Berk, L., Alshammari, F., Lee, H., Hamdan, A., et al. (2012). The effect of moist air on skin blood flow and temperature in subjects with and without diabetes. *Diabetes Technology & Therapeutics*, 14(2), 105-116.

- Petrofsky, J., Lee, H., Trivedi, M., Hudlikar, A. N., Yang, C. H., et al. (2010). The influence of aging and diabetes on heat transfer characteristics of the skin to a rapidly applied heat source. *Diabetes Technology & Therapeutics*, 12(12), 1003-1010.
- Pi-Sunyer, X. (2014). The Look AHEAD Trial: A Review and Discussion Of Its Outcomes. *Curr Nutr Rep*, 3(4), 387-391.
- Picard, D. (2006). Chaperoning steroid hormone action. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 17(6), 229-235.
- Pockley, A. G., De Faire, U., Kiessling, R., Lemne, C., Thulin, T., et al. (2002). Circulating heat shock protein and heat shock protein antibody levels in established hypertension. *Journal of Hypertension*, 20(9), 1815-1820.
- Pockley, A. G., Georgiades, A., Thulin, T., de Faire, U., & Frostegård, J. (2003). Serum heat shock protein 70 levels predict the development of atherosclerosis in subjects with established hypertension. *Hypertension*, 42(3), 235-238.
- Prentki, M., & Nolan, C. J. (2006). Islet beta cell failure in type 2 diabetes. *Journal of Clinical Investigation*, 116(7), 1802-1812.
- Psaty, B. M., Smith, N. L., Siscovick, D. S., Koepsell, T. D., Weiss, N. S., et al. (1997). Health outcomes associated with antihypertensive therapies used as first-line agents. A systematic review and meta-analysis. *JAMA*, 277(9), 739-745.
- Pugsley, M. K., & Tabrizchi, R. (2000). The vascular system. An overview of structure and function. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 44(2), 333-340.
- Reardon, F. D., Leppik, K. E., Wegmann, R., Webb, P., Ducharme, M. B., et al. (2006). The Snellen human calorimeter revisited, re-engineered and upgraded: design and performance characteristics. *Medical and Biological Engineering and Computing*, 44(8), 721-728.
- Rehani, P. R., Iftikhar, H., Nakajima, M., Tanaka, T., Jabbar, Z., et al. (2019). Safety and Mode of Action of Diabetes Medications in comparison with 5-Aminolevulinic Acid (5-ALA). *J Diabetes Res*, 2019, 4267357.

- Reitsma, S., Slaaf, D. W., Vink, H., van Zandvoort, M. A. M. J., & oude Egbrink, M. G. A. (2007). The endothelial glycocalyx: composition, functions, and visualization. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 454(3), 345-359.
- Riaz, H., Khan, M. S., Siddiqi, T. J., Usman, M. S., Shah, N., et al. (2018). Association Between Obesity and Cardiovascular Outcomes: A Systematic Review and Meta-analysis of Mendelian Randomization Studies. *JAMA Netw Open*, 1(7), e183788.
- Ridker, P. M. (2009). The JUPITER Trial. *Circulation: Cardiovascular Quality and Outcomes*, 2(3), 279-285.
- Riggs, D. L., Cox, M. B., Cheung-Flynn, J., Prapapanich, V., Carrigan, P. E., et al. (2004). Functional Specificity of Co-Chaperone Interactions with Hsp90 Client Proteins. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 39(5-6), 279-295.
- Ritossa, F. (1962). A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in drosophila. *Experientia*, 18(12), 571-573.
- Rivas, E., Newmire, D., Crandall, C., Hooper, P., & Ben-Ezra, V. (2016). An acute bout of whole body passive hyperthermia increases plasma leptin, but does not alter glucose or insulin responses in obese type 2 diabetics and healthy adults. *Journal of Thermal Biology*, 59.
- Roffi, M., Patrono, C., Collet, J. P., Mueller, C., Valgimigli, M., et al. (2016). 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*, 37(3), 267-315.
- Romero, S. A., Gagnon, D., Adams, A. N., Cramer, M. N., Kouda, K., et al. (2017). Acute limb heating improves macro- and microvascular dilator function in the leg of aged humans. *American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology*, 312(1), H89-h97.

- Ronconi, V., Giacchetti, G., & Boscaro, M. (2005). [Endocrinology of aldosterone]. *Italian Heart Journal*, 6 (1), 5s-15s.
- Rorsman, P. (1997). The pancreatic beta-cell as a fuel sensor: an electrophysiologist's viewpoint. *Diabetologia*, 40(5), 487-495.
- Roth, G. A., Johnson, C. O., Abate, K. H., Abd-Allah, F., Ahmed, M., et al. (2018). The Burden of Cardiovascular Diseases Among US States, 1990-2016. *JAMA Cardiol*, 3(5), 375-389.
- Rowell, L. B., Brengelmann, G. L., & Murray, J. A. (1969). Cardiovascular responses to sustained high skin temperature in resting man. *Journal of Applied Physiology*, 27(5), 673-680.
- Rowell, L. B., Detry, J. R., Profant, G. R., & Wyss, C. (1971). Splanchnic vasoconstriction in hyperthermic man--role of falling blood pressure. *Journal of Applied Physiology*, 31(6), 864-869.
- Roy, D., Perreault, M., & Marette, A. (1998). Insulin stimulation of glucose uptake in skeletal muscles and adipose tissues in vivo is NO dependent. *American Journal of Physiology*, 274(4), E692-699.
- Ruan, C. H., So, S. P., & Ruan, K. H. (2011). Inducible COX-2 dominates over COX-1 in prostacyclin biosynthesis: mechanisms of COX-2 inhibitor risk to heart disease. *Life Sciences*, 88(1-2), 24-30.
- Rubbo, H., Trostchansky, A., Botti, H., & Batthyány, C. (2002). Interactions of nitric oxide and peroxynitrite with low-density lipoprotein. *Biological Chemistry*, 383(3-4), 547-552.
- Rynders, C. A., Weltman, J. Y., Jiang, B., Breton, M., Patrie, J., et al. (2014). Effects of exercise intensity on postprandial improvement in glucose disposal and insulin sensitivity in prediabetic adults. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 99(1), 220-228.
- Saibil, H. (2013). Chaperone machines for protein folding, unfolding and disaggregation. *Nature Reviews: Molecular Cell Biology*, 14(10), 630-642.



- Sakakibara, B. M., Obembe, A. O., & Eng, J. J. (2019). The prevalence of cardiometabolic multimorbidity and its association with physical activity, diet, and stress in Canada: evidence from a population-based cross-sectional study. *BMC Public Health*, *19*(1), 1361.
- Saltiel, A. R., & Kahn, C. R. (2001). Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*, *414*(6865), 799-806.
- Sanger, F. (1959). Chemistry of insulin; determination of the structure of insulin opens the way to greater understanding of life processes. *Science*, *129*(3359), 1340-1344.
- Sareh, H., Tulapurkar, M. E., Shah, N. G., Singh, I. S., & Hasday, J. D. (2011). Response of mice to continuous 5-day passive hyperthermia resembles human heat acclimation. *Cell Stress and Chaperones*, *16*(3), 297-307.
- Sarwar, N., Gao, P., Seshasai, S. R., Gobin, R., Kaptoge, S., et al. (2010). Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *Lancet*, *375*(9733), 2215-2222.
- Sattelmair, J., Pertman, J., Ding, E. L., Kohl, H. W., 3rd, Haskell, W., et al. (2011). Dose response between physical activity and risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *Circulation*, *124*(7), 789-795.
- Savage, D. B., Petersen, K. F., & Shulman, G. I. (2007). Disordered lipid metabolism and the pathogenesis of insulin resistance. *Physiological Reviews*, *87*(2), 507-520.
- Sawka, M. N., & Montain, S. J. (2000). Fluid and electrolyte supplementation for exercise heat stress. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *72*(2), 564S-572S.
- Scheen, A. J. (2005). Diabetes mellitus in the elderly: insulin resistance and/or impaired insulin secretion? *Diabetes and Metabolism*, *31 Spec No 2*, 5s27-25s34.
- Schiaffino, S., & Reggiani, C. (2011). Fiber types in mammalian skeletal muscles. *Physiological Reviews*, *91*(4), 1447-1531.
- Schmidt, T. S., & Alp, N. J. (2007). Mechanisms for the role of tetrahydrobiopterin in endothelial function and vascular disease. *Clinical Science*, *113*(2), 47-63.

- Schopf, F. H., Biebl, M. M., & Buchner, J. (2017). The HSP90 chaperone machinery. *Nature Reviews: Molecular Cell Biology*, 18(6), 345-360.
- Schütten, M. T., Houben, A. J., de Leeuw, P. W., & Stehouwer, C. D. (2017). The Link Between Adipose Tissue Renin-Angiotensin-Aldosterone System Signaling and Obesity-Associated Hypertension. *Physiology*, 32(3), 197-209.
- Selvin, E., Marinopoulos, S., Berkenblit, G., Rami, T., Brancati, F. L., et al. (2004). Meta-analysis: glycosylated hemoglobin and cardiovascular disease in diabetes mellitus. *Annals of Internal Medicine*, 141(6), 421-431.
- Simar, D., Jacques, A., & Caillaud, C. (2012). Heat shock proteins induction reduces stress kinases activation, potentially improving insulin signalling in monocytes from obese subjects. *Cell Stress and Chaperones*, 17(5), 615-621.
- Skokos, D., Le Panse, S., Villa, I., Rousselle, J. C., Peronet, R., et al. (2001). Nonspecific B and T cell-stimulatory activity mediated by mast cells is associated with exosomes. *International Archives of Allergy and Immunology*, 124(1-3), 133-136.
- Sokolnicki, L. A., Strom, N. A., Roberts, S. K., Kingsley-Berg, S. A., Basu, A., et al. (2009). Skin blood flow and nitric oxide during body heating in type 2 diabetes mellitus. *Journal of applied physiology*, 106(2), 566-570.
- Sondermann, H., Becker, T., Mayhew, M., Wieland, F., & Hartl, F. U. (2000). Characterization of a receptor for heat shock protein 70 on macrophages and monocytes. *Biological Chemistry*, 381(12), 1165-1174.
- Sorger, P. K. (1991). Heat shock factor and the heat shock response. *Cell*, 65(3), 363-366.
- Soti, C., Vermes, A., Haystead, T. A., & Csermely, P. (2003). Comparative analysis of the ATP-binding sites of Hsp90 by nucleotide affinity cleavage: a distinct nucleotide specificity of the C-terminal ATP-binding site. *European Journal of Biochemistry*, 270(11), 2421-2428.

- Steensberg, A., Fischer, C. P., Keller, C., Møller, K., & Pedersen, B. K. (2003). IL-6 enhances plasma IL-1ra, IL-10, and cortisol in humans. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism*, 285(2), E433-437.
- Steinberg, H. O., Chaker, H., Leaming, R., Johnson, A., Brechtel, G., et al. (1996). Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction. Implications for the syndrome of insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation*, 97(11), 2601-2610.
- Stratton, I. M., Adler, A. I., Neil, H. A. W., Matthews, D. R., Manley, S. E., et al. (2000). Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *British Medicine Journal*, 321(7258), 405-412.
- Suzuki, S., & Kulkarni, A. B. (2010). Extracellular heat shock protein HSP90beta secreted by MG63 osteosarcoma cells inhibits activation of latent TGF-beta1. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 398(3), 525-531.
- Swinnen, S. G., Hoekstra, J. B., & DeVries, J. H. (2009). Insulin therapy for type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 32(2), S253-259.
- Tarride, J. E., Lim, M., DesMeules, M., Luo, W., Burke, N., et al. (2009). A review of the cost of cardiovascular disease. *Canadian Journal of Cardiology*, 25(6), e195-202.
- Thannickal, V. J., & Fanburg, B. L. (2000). Reactive oxygen species in cell signaling. *American Journal of Physiology: Lung Cellular and Molecular Physiology*, 279(6), L1005-1028.
- Thijssen, D. H., Black, M. A., Pyke, K. E., Padilla, J., Atkinson, G., et al. (2011). Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. *American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology*, 300(1), H2-12.
- Thijssen, D. H. J., Bruno, R. M., van Mil, A., Holder, S. M., Fata, F., et al. (2019). Expert consensus and evidence-based recommendations for the assessment of flow-mediated dilation in humans. *European Heart Journal*, 40(30), 2534-2547.

- Tietge, U. J. (2014). Hyperlipidemia and cardiovascular disease: inflammation, dyslipidemia, and atherosclerosis. *Current Opinion in Lipidology*, 25(1), 94-95.
- Tinken, T. M., Thijssen, D. H., Hopkins, N., Black, M. A., Dawson, E. A., et al. (2009). Impact of shear rate modulation on vascular function in humans. *Hypertension*, 54(2), 278-285.
- Toborek, M., & Kaiser, S. (1999). Endothelial cell functions. Relationship to atherogenesis. *Basic Research in Cardiology*, 94(5), 295-314.
- Traub, O., & Berk, B. C. (1998). Laminar Shear Stress. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 18(5), 677-685.
- Triantafilou, M., & Triantafilou, K. (2004). Heat-shock protein 70 and heat-shock protein 90 associate with Toll-like receptor 4 in response to bacterial lipopolysaccharide. *Biochemical Society Transactions*, 32(Pt 4), 636-639.
- Triggle, C. R., Samuel, S. M., Ravishankar, S., Marei, I., Arunachalam, G., et al. (2012). The endothelium: influencing vascular smooth muscle in many ways. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 90(6), 713-738.
- Triplitt, C. L. (2012). Understanding the kidneys' role in blood glucose regulation. *American Journal of Managed Care*, 18(1), S11-16.
- Tsutsumi, S., & Neckers, L. (2007). Extracellular heat shock protein 90: a role for a molecular chaperone in cell motility and cancer metastasis. *Cancer Science*, 98(10), 1536-1539.
- Tyrrell, D. J., & Goldstein, D. R. (2021). Ageing and atherosclerosis: vascular intrinsic and extrinsic factors and potential role of IL-6. *Nature Reviews Cardiology*, 18(1), 58-68.
- Uchiyama, T., Atsuta, H., Utsugi, T., Oguri, M., Hasegawa, A., et al. (2007). HSF1 and constitutively active HSF1 improve vascular endothelial function (heat shock proteins improve vascular endothelial function). *Atherosclerosis*, 190(2), 321-329.
- Ukai, T., Iso, H., Yamagishi, K., Saito, I., Kokubo, Y., et al. (2020). Habitual tub bathing and risks of incident coronary heart disease and stroke. *Heart*, 106(10), 732-737.

- Umpierre, D., Ribeiro, P. A., Kramer, C. K., Leitão, C. B., Zucatti, A. T., et al. (2011). Physical activity advice only or structured exercise training and association with HbA1c levels in type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*, 305(17), 1790-1799.
- Uno, H. (1977). Sympathetic innervation of the sweat glands and piloerector muscles of macaques and human beings. *Journal of Investigative Dermatology*, 69(1), 112-120.
- Vacek, T. P., Rehman, S., Neamtu, D., Yu, S., Givimani, S., et al. (2015). Matrix metalloproteinases in atherosclerosis: role of nitric oxide, hydrogen sulfide, homocysteine, and polymorphisms. *Vascular Health and Risk Management*, 11, 173-183.
- van Dam, A. D., Boon, M. R., Berbée, J. F. P., Rensen, P. C. N., & van Harmelen, V. (2017). Targeting white, brown and perivascular adipose tissue in atherosclerosis development. *European Journal of Pharmacology*, 816, 82-92.
- Van de Vosse, F. N., Van Steenhoven, A. A., Janssen, J. D., & Reneman, R. S. (1990). A two-dimensional numerical analysis of unsteady flow in the carotid artery bifurcation. A comparison with three-dimensional in-vitro measurements and the influence of minor stenoses. *Biorheology*, 27(2), 163-189.
- van Niekerk, G., Davis, T., Patterson, H. G., & Engelbrecht, A. M. (2019). How Does Inflammation-Induced Hyperglycemia Cause Mitochondrial Dysfunction in Immune Cells? *Bioessays*, 41(5), e1800260.
- van Niel, G., Raposo, G., Candalh, C., Boussac, M., Hershberg, R., et al. (2001). Intestinal epithelial cells secrete exosome-like vesicles. *Gastroenterology*, 121(2), 337-349.
- Vita, J. A., Keaney, J. F., Jr., Larson, M. G., Keyes, M. J., Massaro, J. M., et al. (2004). Brachial artery vasodilator function and systemic inflammation in the Framingham Offspring Study. *Circulation*, 110(23), 3604-3609.

- Vos, M. J., Hageman, J., Carra, S., & Kampinga, H. H. (2008). Structural and functional diversities between members of the human HSPB, HSPH, HSPA, and DNAJ chaperone families. *Biochemistry*, *47*(27), 7001-7011.
- Warren, T. Y., Barry, V., Hooker, S. P., Sui, X., Church, T. S., et al. (2010). Sedentary behaviors increase risk of cardiovascular disease mortality in men. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *42*(5), 879-885.
- Watson, R. T., & Pessin, J. E. (2001). Intracellular organization of insulin signaling and GLUT4 translocation. *Recent Progress in Hormone Research*, *56*, 175-193.
- Weinbaum, S., Zhang, X., Han, Y., Vink, H., & Cowin, S. C. (2003). Mechanotransduction and flow across the endothelial glycocalyx. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *100*(13), 7988-7995.
- White, M. F., & Kahn, C. R. (1994). The insulin signaling system. *Journal of Biological Chemistry*, *269*(1), 1-4.
- Whitesell, L., & Lindquist, S. L. (2005). HSP90 and the chaperoning of cancer. *Nature Reviews: Cancer*, *5*(10), 761-772.
- Widmaier, E. P., Raff, H., & Strang, K. T. (2008). Human physiology: the mechanisms of body function (11 ed.). New York: Michelle Watnuck, McGraw-Hill.
- Wilkins, B. W., Holowatz, L. A., Wong, B. J., & Minson, C. T. (2003). Nitric oxide is not permissive for cutaneous active vasodilatation in humans. *Journal of Physiology*, *548*(3), 963-969.
- Wilson, T. E., Brothers, R. M., Tollund, C., Dawson, E. A., Nissen, P., et al. (2009). Effect of thermal stress on Frank-Starling relations in humans. *Journal of Physiology*, *587*(Pt 13), 3383-3392.
- Wilson, T. E., Tollund, C., Yoshiga, C. C., Dawson, E. A., Nissen, P., et al. (2007). Effects of heat and cold stress on central vascular pressure relationships during orthostasis in humans. *Journal of Physiology*, *585*(1), 279-285.

- Wong, B. J. (2013). Sensory nerves and nitric oxide contribute to reflex cutaneous vasodilation in humans. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 304(8), R651-R656.
- Wong, B. W. B. J., Tublitz, N. J., McCord, G. R., & Minson, C. T. (2005). Vasoactive intestinal peptide fragment VIP10–28 and active vasodilation in human skin. *Journal of Applied Physiology*, 99(6), 2294-2301.
- World Health, O. (2020). Cardiovascular Diseases. [https://www.who.int/health-topics/cardiovascular-diseases#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/cardiovascular-diseases#tab=tab_1).
- Wu, C. Y., Hu, H. Y., Chou, Y. J., Huang, N., Chou, Y. C., et al. (2015). High Blood Pressure and All-Cause and Cardiovascular Disease Mortalities in Community-Dwelling Older Adults. *Medicine*, 94(47), e2160.
- Wu, K. K., & Thiagarajan, P. (1996). Role of endothelium in thrombosis and hemostasis. *Annual Review of Medicine*, 47, 315-331.
- Xia, Y., Roman, L. J., Masters, B. S., & Zweier, J. L. (1998). Inducible nitric-oxide synthase generates superoxide from the reductase domain. *Journal of Biological Chemistry*, 273(35), 22635-22639.
- Xiao, R., & Xu, X. Z. S. (2021). Temperature Sensation: From Molecular Thermosensors to Neural Circuits and Coding Principles. *Annual Review of Physiology*, 83, 205-230.
- Xu, Q., Hu, Y., Kleindienst, R., & Wick, G. (1997). Nitric oxide induces heat-shock protein 70 expression in vascular smooth muscle cells via activation of heat shock factor 1. *The Journal of Clinical Investigation*, 100(5), 1089-1097.
- Yamaji, T., Harada, T., Hashimoto, Y., Takaeko, Y., Kajikawa, M., et al. (2020). Pre-impaired fasting glucose state is a risk factor for endothelial dysfunction: Flow-mediated Dilation Japan (FMD-J) study. *BMJ Open Diabetes Research & Care*, 8(1), e001610.
- Yip, R. G., & Wolfe, M. M. (2000). GIP biology and fat metabolism. *Life Sciences*, 66(2), 91-103.

- Yousef, H., Ramezanpour Ahangar, E., & Varacallo, M. (2021). Physiology, Thermal Regulation. In *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Copyright © 2021, StatPearls Publishing LLC.
- Yuan, H., Wang, T., Niu, Y., Liu, X., & Fu, L. (2017). AMP-activated protein kinase-mediated expression of heat shock protein beta 1 enhanced insulin sensitivity in the skeletal muscle. *FEBS Letters*, *591*(1), 97-108.
- Yuen, K. C., Chong, L. E., & Riddle, M. C. (2013). Influence of glucocorticoids and growth hormone on insulin sensitivity in humans. *Diabetic Medicine*, *30*(6), 651-663.
- Yusuf, S., Hawken, S., Ounpuu, S., Dans, T., Avezum, A., et al. (2004). Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*, *364*(9438), 937-952.
- Zatterale, F., Longo, M., Naderi, J., Raciti, G. A., Desiderio, A., et al. (2019). Chronic Adipose Tissue Inflammation Linking Obesity to Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. *Frontiers in Physiology*, *10*, 1607.
- Zhang, J. Y., Green, C. L., Tao, S., & Khavari, P. A. (2004). NF-kappaB RelA opposes epidermal proliferation driven by TNFR1 and JNK. *Genes and Development*, *18*(1), 17-22.
- Zhao, G., Dharmadhikari, G., Maedler, K., & Meyer-Hermann, M. (2014). Possible role of interleukin-1 $\beta$  in type 2 diabetes onset and implications for anti-inflammatory therapy strategies. *PLoS Computational Biology*, *10*(8), e1003798.
- Zhdanov, D. A. (1964). [On functional anatomy of capillary blood vessels]. *Arkhiv Anatomii, Gistologii i Embriologii*, *47*, 3-13.
- Zheng, Y., Ley, S. H., & Hu, F. B. (2018). Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nature Reviews: Endocrinology*, *14*(2), 88-98.
- Ziegler, T., Bouzourène, K., Harrison, V. J., Brunner, H. R., & Hayoz, D. (1998). Influence of oscillatory and unidirectional flow environments on the expression of endothelin



and nitric oxide synthase in cultured endothelial cells. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 18(5), 686-692.

Zitvogel, L., Regnault, A., Lozier, A., Wolfers, J., Flament, C., et al. (1998). Eradication of established murine tumors using a novel cell-free vaccine: dendritic cell-derived exosomes. *Nature Medicine*, 4(5), 594-600.

## **Annexe**



## Basic Research

# Acute Vascular Benefits of Finnish Sauna Bathing in Patients With Stable Coronary Artery Disease

Hugo Gravel, PhD,<sup>a,b,\*</sup> Parya Behzadi, MSc,<sup>a,b,\*</sup> Sarah Cardinal, BSc,<sup>a,b</sup> Hadiatou Barry, MSc,<sup>a,b</sup> Paul-Eduard Neaogoe, PhD,<sup>c</sup> Martin Juneau, MD,<sup>a</sup> Anil Nigam, MD,<sup>a</sup> Martin G. Sirois, PhD,<sup>b,c</sup> and Daniel Gagnon, PhD<sup>a,b,c</sup>

<sup>a</sup> Cardiovascular Prevention and Rehabilitation Centre, Montréal Heart Institute, Montréal, Québec, Canada

<sup>b</sup> Department of Pharmacology and Physiology, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

<sup>c</sup> Research Centre, Montréal Heart Institute, Montréal, Québec, Canada

### ABSTRACT

**Background:** Finnish sauna bathing habits are associated with a decreased risk of cardiovascular mortality. The physiologic adaptations mediating this association remain to be fully elucidated. This study tested the hypothesis that Finnish sauna bathing acutely improves peripheral flow-mediated dilation (FMD) in middle-aged and older adults with stable coronary artery disease (CAD).

**Methods:** Twenty-two adults (20 male, 2 female; 67 ± 10 years) with stable CAD underwent 2 periods of 10 minutes in a Finnish sauna (81.3 ± 2.7°C, 23 ± 3% humidity) separated by 10 minutes of thermoneutral rest. Before and 51 ± 8 minutes after sauna bathing, brachial artery FMD and postocclusive reactive hyperemia (PORH) were evaluated by means of Doppler ultrasound.

**Results:** Sauna bathing increased core temperature (mean +0.66°C [95% CI 0.54-0.77],  $P < 0.01$ ) and heart rate (+27 beats/min [24-29],  $P < 0.01$ ), and decreased systolic (–19 mm Hg [–31 to –6];  $P < 0.01$ )

### RÉSUMÉ

**Introduction :** L'utilisation régulière du sauna finlandais est associée à une diminution du risque de mortalité cardiovasculaire. Les adaptations physiologiques qui interviennent dans cette association ne sont pas encore entièrement élucidées. La présente étude a permis de vérifier l'hypothèse selon laquelle le sauna finlandais améliorerait la dilatation induite par le flux (DIF) périphérique chez les personnes d'âge moyen et les personnes âgées atteintes d'une maladie coronarienne (MC) stable.

**Méthodes :** Vingt-deux adultes (20 hommes, 2 femmes; 67 ± 10 ans) atteints d'une MC stable ont passé 2 périodes de 10 minutes dans un sauna finlandais (81,3 ± 2,7 °C, 23 ± 3 % d'humidité) entrecoupées par 10 minutes de repos dans un environnement thermiquement neutre. Avant et 51 ± 8 minutes après le sauna, la DIF de l'artère brachiale et l'hyperémie réactive post-occlusive (PORH, de l'anglais *postocclusive reactive hyperemia*) ont été évaluées par échographie Doppler.

Recent epidemiologic evidence suggests that regular Finnish sauna use provides multiple health benefits.<sup>1</sup> Finnish sauna bathing may be particularly beneficial for cardiovascular health, as frequency and duration of Finnish sauna bathing were associated with a reduced risk of cardiovascular mortality,<sup>2</sup> hypertension,<sup>3</sup> stroke,<sup>4</sup> and dementia<sup>5</sup> in a prospective cohort of middle-aged Finnish men. However, the physiologic adaptations linking sauna use to reduced cardiovascular risk remain to be fully elucidated.

A potential physiologic adaptation that could underlie the cardiovascular benefits of Finnish sauna bathing is the effect of heat exposure on markers of vascular health.<sup>6</sup> Passive heat exposure notably improves brachial artery flow-mediated dilation (FMD), an independent predictor of cardiovascular events.<sup>7</sup> Previous studies have demonstrated that brachial artery FMD is improved following repeated whole-body<sup>8,9</sup> or isolated forearm<sup>10</sup> hot water immersion in young healthy adults, as well as after 2-3 weeks of daily far-infrared sauna use in middle-aged men with cardiovascular risk factors<sup>11</sup> and chronic heart failure.<sup>12,13</sup> Brachial<sup>14,15</sup> and femoral<sup>16</sup> artery FMD are also improved acutely after hot water limb immersion in healthy young and older adults, respectively. In contrast, we demonstrated that Finnish sauna bathing does not acutely improve brachial artery FMD in healthy middle-aged and older adults.<sup>17</sup> Although Finnish sauna bathing increases body temperature and heart rate<sup>17</sup> and decreases peripheral vascular resistance<sup>18</sup> and blood pressure,<sup>17-20</sup> it

Received for publication February 19, 2020. Accepted June 25, 2020.

\*These authors contributed equally to this work.

Corresponding author: Dr Daniel Gagnon, Cardiovascular Prevention and Rehabilitation Centre, Montréal Heart Institute, 5055 rue Saint-Zotique Est, Montréal, Québec H1T 1N6, Canada. Tel.: +1-514-374-1480, ext 4205; fax: +1-514 374-2445.

E-mail: [daniel.gagnon.3@umontreal.ca](mailto:daniel.gagnon.3@umontreal.ca)

See page 498 for disclosure information.

and diastolic ( $-6$  mm Hg [ $-11$  to  $-1$ ],  $P < 0.01$ ) blood pressures. Brachial artery FMD was greater after sauna bathing ( $+1.21\%$  [ $0.16$ - $2.26$ ],  $P = 0.04$ ), whereas PORH was unchanged (peak:  $+0.51$  mL/min/mm Hg [ $-0.13$  to  $1.15$ ],  $P = 0.11$ ; area under the curve:  $+0.21$  mL/mm Hg [ $-0.12$  to  $0.54$ ];  $P = 0.19$ ).

**Conclusions:** A typical Finnish sauna bathing session acutely improves peripheral FMD in middle-aged and older adults with stable CAD.

may not provide a sufficient thermal and/or cardiovascular stimulus compared with other heating modalities to acutely improve peripheral FMD in healthy individuals. However, it remains unknown if the thermal and/or cardiovascular responses associated with Finnish sauna bathing acutely improve peripheral FMD in individuals with endothelial dysfunction, such as individuals with overt cardiovascular disease.

The primary objective of this study was to test the hypothesis that Finnish sauna bathing acutely improves brachial artery FMD in patients with stable coronary artery disease (CAD). A secondary objective was to explore the effect of Finnish sauna bathing on peripheral microvascular function and inflammatory markers within this population.

## Methods

### Ethical approval

This study was approved by the Montreal Heart Institute Research Ethics and New Technology Development Committee (#2017-2179). All participants provided written informed consent before their participation in the study.

### Participants

Twenty-two participants  $> 50$  years of age with stable CAD were recruited. Stable CAD was defined as  $\geq 70\%$  arterial diameter narrowing of at least 1 major epicardial coronary artery documented by angiography and treated by percutaneous coronary intervention and/or coronary artery bypass graft  $> 3$  months before enrollment, with stable medication  $\geq 1$  month before enrollment. Exclusion criteria included left ventricular ejection fraction  $< 40\%$  and/or clinical evidence of heart failure, significant valvular heart disease, uncontrolled hypertension or diabetes, and resting electrocardiographic (ECG) abnormalities interfering with ST-segment analysis. Female participants were postmenopausal and not on hormonal replacement therapy. Eligibility was determined during preliminary visits that included detailed medical history and lifestyle questionnaires, a resting 12-lead ECG and blood pressure measurement, and a fasting blood sample. Physical activity level and sedentary time were assessed with the use of the Global Physical Activity Questionnaire,<sup>21</sup> and participants were asked to self-report their sauna use habits.

**Résultats :** Le sauna a augmenté la température centrale (moyenne  $+0,66$  °C [IC à 95 %  $0,54$ - $0,77$ ],  $P < 0,01$ ) et la fréquence cardiaque ( $+27$  battements/min [ $24$ - $29$ ],  $P < 0,01$ ), et diminué la pression artérielle systolique ( $-19$  mmHg [ $-31$  à  $-6$ ];  $P < 0,01$ ) et la pression artérielle diastolique ( $-6$  mmHg [ $-11$  à  $-1$ ],  $P < 0,01$ ). La DIF de l'artère brachiale était plus grande après le sauna ( $+1,21$  % [ $0,16$ - $2,26$ ],  $P = 0,04$ ), alors que la PORH demeurait inchangée (pic :  $+0,51$  ml/min/mmHg [ $-0,13$  à  $1,15$ ],  $P = 0,11$ ; aire sous la courbe :  $+0,21$  ml/mmHg [ $-0,12$  à  $0,54$ ];  $P = 0,19$ ).

**Conclusions :** Une séance typique de sauna finlandais améliore la DIF périphérique des personnes d'âge moyen et des personnes âgées atteintes d'une MC stable.

## Study design

Brachial artery FMD and microvascular reactivity were evaluated before and after 2 10-minute sessions of Finnish sauna bathing separated by 10 minutes of rest outside the sauna. This protocol reflects typical Finnish sauna bathing practice<sup>1</sup> and is consistent with the mean session duration ( $\sim 14$  minutes) reported by Finnish men who demonstrated a reduced risk of cardiovascular mortality.<sup>2</sup> Before the experimental visit, participants were asked to fast for 12 hours and consume a standardised snack (47 g carbohydrate, 3.5 g fat, 2 g protein) 1 hour before their arrival to the laboratory. Participants were also asked to refrain from alcohol and caffeine or other stimulants and to avoid intense physical activity and heat exposure for 12 hours before the visit. Supplements and over-the-counter medications were not allowed 12 hours before the visit, but participants were asked to maintain their prescribed medication regimen.

On arrival to the laboratory (between 7:30 and 9:30 AM), participants provided a urine sample before weighing themselves nude. They then dressed into shorts (for men) or shorts and a sports bra or loose t-shirt (for women) and were instrumented before lying down supine within a quiet and thermoneutral environment ( $24^{\circ}\text{C}$ ). After 30 minutes of supine rest, brachial artery FMD and microvascular reactivity were evaluated and a venous blood sample was taken. Participants then walked to the sauna and sat upright outside the sauna for  $\geq 5$  minutes to obtain measurements of heart rate, blood pressure, and body temperatures. Participants then entered a traditional Finnish sauna ( $81.3 \pm 2.7^{\circ}\text{C}$  and  $23 \pm 3\%$  humidity) and sat upright on the upper bench for 10 minutes. Participants then exited the sauna and sat for 10 minutes before reentering the sauna for a second 10-minute exposure. Participants then walked back to the laboratory and lay down in a supine position for 30 minutes. A venous blood sample was taken before brachial artery FMD and microvascular reactivity were reassessed. Participants could drink water ad libitum throughout the visit. A nude weight was obtained at the end of the visit.

## Measurements

Body height was measured with the use of a stadiometer (model 216; Seca) and body mass with the use of a digital scale (IND236, precision 0.01 kg; Mettler-Toledo). Urine specific gravity was measured with the use of a digital refractometer (PAL-10S; Atago). Heart rate was obtained

from lead II of a 5-lead ECG (Solar i8000; GE Healthcare). Systolic and diastolic blood pressures were measured by means of ECG-gated auscultation of the brachial artery (Tango M2; SunTech Medical). Skin temperatures were measured with wireless sensors (iButtons; Embedded Data Systems) taped onto the chest, shoulder, thigh, and calf. Oral temperature was measured with a handheld thermometer (SureTemp Plus 690; Welch Allyn). Core temperature was measured with an ingestible telemetric pill (CorTemp; HQ) that participants swallowed when waking on the morning of their visit.

Brachial artery FMD was measured according to expert guidelines.<sup>22</sup> Brachial artery diameter and blood velocity were measured simultaneously by means of high-resolution Doppler ultrasound (uSmart3300; Terason) equipped with a 4–15-MHz linear array transducer probe at an insonation angle of 60°. A rapid inflation/deflation pneumatic cuff (SC5; Hokanson) was placed immediately distal to the antecubital fossa. The ultrasound probe was placed 5–15 cm proximal to the antecubital fossa, where an optimal B-mode image could be obtained. The measurement site was identified with a surgical marker and measurements before and after sauna were made at the same site. Brachial artery diameter and blood velocity were recorded for 1 minute, following which the forearm cuff was inflated to 250 mm Hg for 5 minutes by a rapid cuff inflator (E20; Hokanson). The recording resumed 1 minute before cuff deflation and continued for 3 minutes after occlusion. Ultrasound recordings were sent to a remote computer with the use of a frame grabber (DVIUSB 3.0; Epiphany), video captured (Camtasia v9; TechSmith), and analyzed with the use of edge-detection and wall-tracking software (Cardiovascular Suite v3; Quipu). This method provided measurements of arterial diameter and time-averaged positive (antegrade)/negative (retrograde) blood velocities based on the Doppler envelope at a sampling rate of 30 Hz.

The blood samples were centrifuged (1500g, 10 minutes, 4°C) and supernates were stored at –80°C. Serum concentrations of interleukin-1 receptor antagonist (IL-1RA), IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, tumour necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), soluble intercellular adhesion molecule 1 (sICAM-1), and soluble vascular adhesion molecule-1 (sVCAM-1) were determined with the use of magnetic Luminex assay kits (R&D Systems). Kit sensitivities were 4.05 pg/mL for IL1-RA, 0.08 pg/mL for IL-1 $\beta$ , 0.14 pg/mL for IL-6, 0.211 pg/mL for IL-10, 0.29 pg/mL for TNF- $\alpha$ , 0.096 ng/mL for sICAM-1, and 0.6 ng/mL for sVCAM-1. High-sensitivity C-reactive protein (CRP) was determined with the CardioPhase assay (sensitivity 0.1 mg/L; Siemens Healthcare Diagnostics Products).

## Data analyses

Baseline brachial artery diameter was defined as the average diameter during the 1-minute baseline recording. Peak brachial artery diameter was defined as the maximal 1-second average during the post-occlusion period. Unadjusted FMD was determined as the percentage change in brachial artery diameter from baseline to peak. Shear rate ( $4 \times$  mean blood velocity/diameter) area under the curve (AUC) up to peak diameter was considered to be the stimulus for FMD. Antegrade and retrograde shear rates were calculated using positive and negative mean blood velocities, respectively. Microvascular reactivity was quantified as peak and AUC forearm

vascular conductance (FVC; forearm blood flow  $\div$  mean arterial pressure) during the 3-minute post-occlusion period. Mean skin temperature was calculated from the skin temperature measurements.<sup>23</sup> Sweat loss was calculated as the change in nude body weight corrected for fluid intake and/or urine output.

## Statistical analyses

Based on previous data,<sup>16</sup> we calculated that 16 participants would provide 80% power to detect a  $1.5 \pm 1.5\%$  change in FMD by means of a 2-tailed paired *t* test with an alpha of 0.01. An increase in FMD of 1.5% was considered to be meaningful, because the relative risk of cardiovascular events decreases by 13% per 1% increase in FMD.<sup>24</sup> Such a change would also be greater than that observed during repeated measurements in our laboratory (mean  $-0.11\%$  [95% confidence interval  $-1.14$  to  $0.92$ ],  $P = 0.82$ ).<sup>17</sup> Normality of data distribution was verified with the use of the Shapiro-Wilk test. Paired *t* tests (normal distribution) or Wilcoxon signed-rank tests (deviation from normality) were used to compare values measured at 2 time points. A repeated-measures analysis of variance, with Greenhouse-Geisser adjustment when there was deviation from the assumption of sphericity (Mauchly test), was used to compare data measured at more than 2 time points. Post hoc comparisons were conducted with the use of Sidak adjustment. Baseline diameter was used as a covariate for FMD comparisons, based on an allometric scaling approach.<sup>25</sup> Shear rate AUC was also used as a covariate for FMD analyses to account for potential changes in the stimulus for FMD. The critical *P* value was set at  $< 0.05$ . Statistical analyses were performed with the use of commercial software (IBM SPSS v24 and GraphPad Prism v8.0.1). Data are reported as mean  $\pm$  SD and changes are reported as mean (95% confidence interval).

## Results

Participant characteristics are presented in Table 1. All participants completed sauna bathing without any adverse events.

### Physiologic responses during sauna bathing

Thermoregulatory and hemodynamic variables during sauna bathing are depicted in Figure 1. Sauna bathing increased mean skin ( $+9.2^\circ\text{C}$  [8.4–9.7],  $P < 0.01$ ), oral ( $+1.0^\circ\text{C}$  [0.7–1.2],  $P < 0.01$ ), and core ( $+0.6^\circ\text{C}$  [0.4–0.8],  $P < 0.01$ ) temperatures, as well as heart rate ( $+27$  beats/min [23–31],  $P < 0.01$ ). Sauna bathing decreased systolic ( $-19$  mm Hg [ $-6$  to  $-31$ ],  $P < 0.01$ ) and diastolic ( $-6$  mm Hg [ $-1$  to  $-11$ ],  $P = 0.03$ ) blood pressures. Sweat loss was  $0.45 \pm 0.12$  kg ( $-0.51 \pm 0.12\%$  of initial body weight).

### Vascular function before and after sauna bathing

Ultrasound recordings of sufficient quality for analyses were obtained in 17 participants. Physiologic variables at the time of FMD assessments for these participants are reported in Table 2. Post-sauna measurements were performed  $51 \pm 8$  minutes after exiting the sauna. Before the post-sauna FMD measurement, mean skin ( $+1.0^\circ\text{C}$  [0.4–1.6],  $P < 0.01$ ) and core ( $+0.3^\circ\text{C}$  [0.2–0.5],  $P < 0.01$ ) temperatures remained elevated whereas

**Table 1. Participant characteristics**

Age, y	66 ± 9
Sex, male/female	20/2
Body mass index, kg/m <sup>2</sup>	29.9 ± 5.3
Systolic blood pressure, mm Hg	129 ± 13
Diastolic blood pressure, mm Hg	78 ± 6
Resting heart rate, beats/min	62 ± 12
Total cholesterol, mmol/L	2.97 ± 0.67
HDL cholesterol, mmol/L	1.23 ± 0.31
LDL cholesterol, mmol/L	1.14 ± 0.35
Fasting glucose, mmol/L	5.9 ± 1.9
HbA <sub>1c</sub> , %	6.0 ± 0.9
Active smokers	0
CCS class, I/II/III/IV	22/0/0/0
History of myocardial infarction	17 (77%)
History of PCI	20 (91%)
History of CABG	4 (18%)
Physical activity level, METs×min/wk	3332 ± 3143
Sedentary time, h/d	7.0 ± 3.2
Sauna bathing frequency, sessions/wk	
< 1	18 (82%)
1-3	3 (14%)
≥ 3	1 (4%)
Drug class	
Statins	22 (100%)
Acetylsalicylic acid	21 (95%)
Antiplatelet agents	9 (41%)
β-Blockers	15 (68%)
Calcium channel blockers	6 (27%)
ACE inhibitors	9 (41%)
Angiotensin II receptor blockers	5 (23%)
Diuretics	1 (5%)
Anticoagulants	1 (5%)
Hypoglycemic agents	6 (27%)

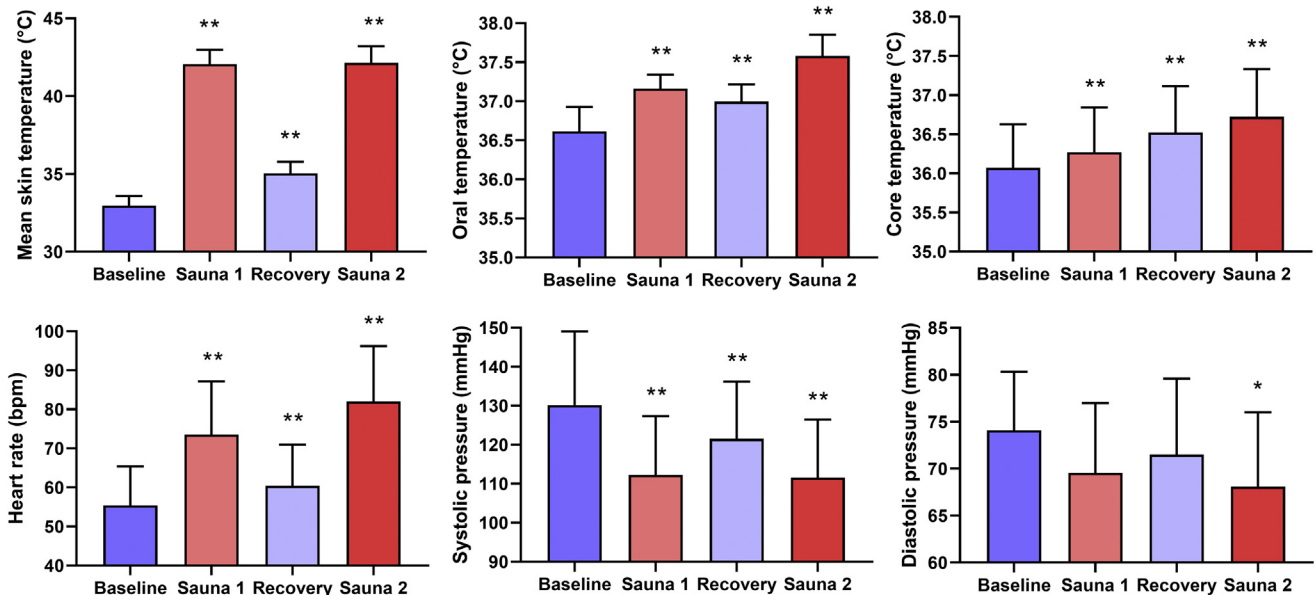
Values are presented as mean ± SD or n (%).

ACE, angiotensin-converting enzyme; CCS, Canadian Cardiovascular Society; CABG, coronary artery bypass graft; HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; PCI, percutaneous coronary intervention.

systolic blood pressure remained lower (−9 mm Hg [−16 to −3],  $P = 0.01$ ) compared with pre-sauna measurements. An increased antegrade and decreased retrograde shear rate was also observed after sauna bathing. Brachial artery FMD was greater after sauna bathing (Fig. 2), expressed as absolute (+0.05 mm [0.00–0.09],  $P = 0.03$ ) and relative (+1.21% [0.16–2.26],  $P = 0.04$ ) values (Table 2). The greater post-sauna FMD remained significant when accounting for baseline diameter ( $P = 0.03$ ) and when including baseline diameter and shear rate AUC as covariates ( $P = 0.03$ ). No effect of sauna bathing was observed for peak FVC (+0.51 mL/min/mm Hg [−0.13 to 1.15],  $P = 0.11$ ) and FVC AUC (+0.21 mL/mm Hg [−0.12 to 0.54],  $P = 0.19$ ) (Fig. 2).

### Markers of inflammation

IL-6 was greater after sauna bathing ( $0.85 ± 0.89$  to  $1.16 ± 1.28$  pg/mL, change +0.30 [0.11–0.51],  $P < 0.01$ ). The change in IL1-RA ( $1227 ± 329$  to  $1280 ± 396$  pg/mL, change +38.67 [−44.82 to 153.1],  $P = 0.23$ ), CRP ( $1.05 ± 1.15$  to  $1.06 ± 1.25$  mg/L, change −0.03 [−0.60 to −0.01],  $P = 0.14$ ), sICAM-1 ( $0.56 ± 0.28$  to  $0.57 ± 0.27$  ng/mL, change 0.00 ng/mL [−0.02 to 0.04],  $P = 0.46$ ), sVCAM-1 ( $1.08 ± 0.32$  to  $1.12 ± 0.32$  ng/mL, change +0.01 [−0.02 to 0.09],  $P = 0.40$ ), and TNF- $\alpha$  ( $12.5 ± 3.4$  to  $12.5 ± 3.9$  pg/mL, change +0.39 [−0.60 to 0.62],  $P = 0.71$ ) were not significant. The coefficients of variation for IL-6, IL1-RA, CRP, sVCAM-1, sICAM-1, and TNF- $\alpha$ , respectively, were 5.2%, 3.4%, < 7.5%, 2.5%, 3.0%, and 4.3%. Concentrations of IL-1 $\beta$  and IL-10 were below the detectable threshold before and after sauna bathing.



**Figure 1.** Thermoregulatory and hemodynamic variables during Finnish sauna bathing. Values are presented as mean ± SD for  $n = 22$ , except for core temperature ( $n = 15$ ) at baseline, at the 10th minute of the first bout of sauna (sauna 1), at the end of the recovery period outside the sauna (recovery), and at the 10th minute of the second bout of sauna (sauna 2). \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$  for pairwise testing vs baseline (Sidak adjustment).



**Table 2. Physiologic outcomes before and after Finnish sauna bathing, mean ± SD (n = 17)**

Variable	Before	After	P value
Mean skin temperature, °C	33.0 ± 0.6	34.0 ± 0.8	< 0.01
Oral temperature, °C	36.6 ± 0.2	36.7 ± 0.2	0.06
Core temperature, °C	36.28 ± 0.63	36.61 ± 0.71	< 0.01
Systolic blood pressure, mm Hg	127 ± 17	117 ± 12	< 0.01
Diastolic blood pressure, mm Hg	71 ± 9	69 ± 8	0.20
Heart rate, beats/min	55 ± 10	57 ± 10	0.22
Baseline diameter, mm	4.85 ± 0.68	4.74 ± 0.77	0.16
Baseline antegrade shear rate, s <sup>-1</sup>	66 ± 29	97 ± 40	< 0.01
Baseline retrograde shear rate, s <sup>-1</sup>	7 ± 7	3 ± 2	0.02
Baseline FVC, mL/min/mm Hg	0.87 ± 0.50	1.34 ± 0.53	< 0.01
Peak dilation, mm	0.13 ± 0.07	0.17 ± 0.08	0.03
FMD, %	2.75 ± 1.81	3.96 ± 1.43	0.04
Time to peak dilation, s	64 ± 35	74 ± 34	0.42
Peak shear rate, s <sup>-1</sup>	276 ± 120	305 ± 114	0.14
Shear rate AUC, au	5772 ± 2760	6260 ± 3040	0.25
Peak FVC, mL/min/mm Hg	3.82 ± 1.26	4.33 ± 1.43	0.11
FVC AUC, mL/mm Hg	1.81 ± 0.83	2.02 ± 0.93	0.19

AUC, area under the curve; FMD, flow-mediated dilation; FVC, forearm vascular conductance.

### Discussion

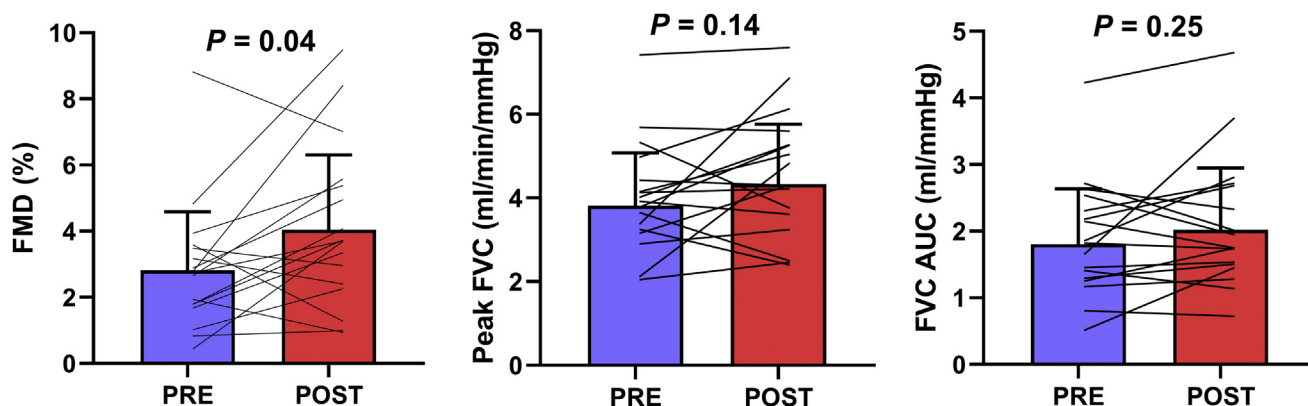
This study examined the acute effect of a typical Finnish sauna session on brachial artery FMD, microvascular reactivity, and circulating markers of inflammation in patients with stable CAD. The results show that Finnish sauna bathing acutely improves brachial artery FMD, reduces systolic blood pressure, and increases the circulating concentration of IL-6.

Motivated by the observation that Finnish sauna bathing is associated with a reduced risk of cardiovascular mortality,<sup>2</sup> recent studies have examined potential mechanisms that underlie this association. A prevailing hypothesis is that heat exposure induces physiologic responses that are beneficial for cardiovascular health.<sup>1</sup> Indeed, heat exposure improves peripheral FMD, arterial stiffness, and microvascular reactivity.<sup>6</sup> However, studies performed to date have used models of heat exposure (prolonged hot water immersion, infrared sauna) that are not representative of Finnish sauna bathing. Therefore, it is debatable whether the observations made with such models can be used to explain the relationship between Finnish sauna bathing habits and risk of cardiovascular mortality. Although previous studies have reported the acute cardiovascular responses during Finnish sauna

bathing, they have been limited to asymptomatic individuals.<sup>18,19,26-28</sup> This is an important consideration, because ~58% of the cohort in whom Finnish sauna bathing habits were associated with a reduced risk of cardiovascular mortality were symptomatic, including 24% with CAD. Few studies using Finnish sauna bathing have been performed in symptomatic individuals, and those studies were motivated by safety concerns.<sup>20,29</sup> The present study extends previous studies by demonstrating two acute physiologic adaptations associated with Finnish sauna bathing that may be beneficial for long-term cardiovascular health in patients with stable CAD: improved brachial artery FMD and a lowering of systolic blood pressure. Considering that brachial artery FMD<sup>7</sup> and systolic blood pressure<sup>30</sup> are independent predictors of future cardiovascular events, such physiologic adaptations may underlie the inverse relationship between Finnish sauna bathing habits and cardiovascular risk.<sup>2</sup> However, future studies are needed to determine if the acute responses we observed persist following long-term Finnish sauna bathing.

Previous studies have demonstrated that heat-induced improvements in brachial artery FMD are mediated by an increase in arterial shear stress.<sup>8,10,15</sup> Specifically, the beneficial effect of heat exposure on brachial artery FMD is thought to result from increased antegrade and decreased retrograde shear stress. Although we did not measure shear stress during sauna bathing, shear stress was elevated after sauna bathing, and the shear pattern shifted toward increased antegrade and reduced retrograde shear stress. This residual effect of sauna bathing on shear stress is likely related to the thermoregulatory and cardiovascular adjustments that occur during Finnish sauna bathing. In the present study, sauna bathing resulted in a notable increase in skin (to ~42°C) and core (by ~0.6°C) temperatures as well as heart rate (by ~27 beats/min) within a short, 20-minute exposure. We hypothesize that these physiologic responses increased blood flow throughout the vascular tree and resulted in greater shear stress on the vascular endothelium. However, this study was not designed to determine the mechanism(s) through which Finnish sauna bathing improves brachial artery FMD, and future studies are needed to investigate the possibility that greater shear stress mediated the acute improvement in brachial artery FMD.

The present observations are consistent with a prior study that observed an acute improvement in femoral artery FMD



**Figure 2.** Indices of vascular function measured before (pre) and after (post) Finnish sauna bathing. Values are presented as mean ± SD and individual data for n = 17. AUC, area under the curve; FMD, flow-mediated dilation; FVC, forearm vascular conductance. P values are for bilateral paired t test.

following lower leg hot water immersion in healthy older adults.<sup>16</sup> In contrast, we previously reported that Finnish sauna bathing does not acutely improve brachial artery FMD in healthy middle-aged and older adults.<sup>17</sup> One possibility for these divergent observations is that the shear stimulus required to acutely improve peripheral FMD is dependent on baseline endothelial function, such that improvements in peripheral FMD may require less of a shear stimulus in individuals with vascular dysfunction. Regardless, the present study demonstrates that a typical Finnish sauna bathing session provides a sufficient “dose” of passive heating to acutely improve brachial artery FMD in patients with stable CAD. In contrast, microvascular reactivity and most inflammatory markers remained unchanged following sauna bathing. One exception is the observed increase in IL-6. Chronically elevated levels of IL-6 are associated with an increased cardiovascular risk, including lower brachial artery FMD and microvascular reactivity.<sup>31</sup> In the present study, greater brachial artery FMD was observed following sauna bathing despite elevated IL-6 concentrations. This observation suggests that an acute increase in circulating IL-6 does not necessarily impair brachial artery FMD. This possibility may relate to the stimulus that mediates the increase in IL-6. For example, acute and transient increases in IL-6 during exercise are thought to stimulate the long-term anti-inflammatory profile associated with exercise training.<sup>32</sup> Although future studies are needed to determine if the acute increase in IL-6 observed following sauna bathing is associated with an anti-inflammatory response, it is interesting to note that lower levels of the proinflammatory marker CRP have been reported in regular Finnish sauna users.<sup>33</sup>

### Limitations

When interpreting the results of this study, the following limitations should be considered. First, we did not include a control intervention. However, repeated measurements of peripheral FMD are similar within our laboratory.<sup>17</sup> Second, we examined only 1 sauna intervention and cannot determine if shorter or longer sauna durations also improve brachial artery FMD. Third, we could not determine if the greater brachial artery FMD observed following sauna bathing reflects an improvement in endothelial and/or vascular smooth muscle function, because we did not perform a measurement of endothelial-independent dilation. Fourth, participants were asked to maintain their medication regimen the day of the experimental visit. And fifth, the study sample included only stable and optimally treated CAD patients.

### Conclusion

This study demonstrates that Finnish sauna bathing improves brachial artery FMD, reduces systolic blood pressure, and increases the circulating concentration of IL-6 in patients with stable CAD. Future studies should consider the long-term implications of Finnish sauna bathing for secondary cardiovascular disease prevention.

### Acknowledgements

The authors thank Céline Ferland, Geoff B. Coombs, Virginie Marcoux-Clément, Ange Gianni Elaheebaccus, and the medical personnel of the Montreal Heart Institute

Cardiovascular Prevention and Rehabilitation Centre for their contribution to data collection.

### Funding Sources

Fonds de Recherche du Québec—Santé (grant ID: 33293), Heart and Stroke Foundation of Canada (grant ID: G-18-0022206), Montreal Heart Institute Foundation, and Canada Foundation for Innovation (grant ID: 35775).

### Disclosures

The authors have no conflicts of interest to disclose.

### References

1. Laukkanen JA, Laukkanen T, Kunutsor SK. Cardiovascular and other health benefits of sauna bathing: a review of the evidence. *Mayo Clin Proc* 2018;93:1111-21.
2. Laukkanen T, Khan H, Zaccardi F, Laukkanen JA. Association between sauna bathing and fatal cardiovascular and all-cause mortality events. *JAMA Intern Med* 2015;175:542-8.
3. Zaccardi F, Laukkanen T, Willeit P, et al. Sauna bathing and incident hypertension: A prospective cohort study. *Am J Hypertens* 2017;30:1120-5.
4. Kunutsor SK, Khan H, Zaccardi F, et al. Sauna bathing reduces the risk of stroke in Finnish men and women: a prospective cohort study. *Neurology* 2018;90:e1937-44.
5. Laukkanen T, Kunutsor S, Kauhanen J, Laukkanen JA. Sauna bathing is inversely associated with dementia and Alzheimer's disease in middle-aged Finnish men. *Age Ageing* 2017;46:245-9.
6. Cheng JL, MacDonald MJ. Effect of heat stress on vascular outcomes in humans. *J Appl Physiol* 2019;126:771-81.
7. Yeboah J, Folsom AR, Burke GL, et al. Predictive value of brachial flow-mediated dilation for incident cardiovascular events in a population-based study: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Circulation* 2009;120:502-9.
8. Carter HH, Spence AL, Atkinson CL, Pugh CJ, Naylor LH, Green DJ. Repeated core temperature elevation induces conduit artery adaptation in humans. *Eur J Appl Physiol* 2014;114:859-65.
9. Brunt VE, Howard MJ, Francisco MA, Ely BR, Minson CT. Passive heat therapy improves endothelial function, arterial stiffness and blood pressure in sedentary humans. *J Physiol* 2016;594:5329-42.
10. Naylor LH, Carter H, FitzSimons MG, et al. Repeated increases in blood flow, independent of exercise, enhance conduit artery vasodilator function in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011;300:H664-9.
11. Imamura M, Biro S, Kihara T, et al. Repeated thermal therapy improves impaired vascular endothelial function in patients with coronary risk factors. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:1083-8.
12. Kihara T, Biro S, Imamura M, et al. Repeated sauna treatment improves vascular endothelial and cardiac function in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:754-9.
13. Ohori T, Nozawa T, Ihori H, et al. Effect of repeated sauna treatment on exercise tolerance and endothelial function in patients with chronic heart failure. *Am J Cardiol* 2012;109:100-4.
14. Cheng JL, Au JS, MacDonald MJ. Peripheral artery endothelial function responses to altered shear stress patterns in humans. *Exp Physiol* 2019;104:1126-35.



15. Tinken TM, Thijssen DH, Hopkins N, et al. Impact of shear rate modulation on vascular function in humans. *Hypertension* 2009;54:278-85.
16. Romero SA, Gagnon D, Adams AN, Cramer MN, Kouda K, Crandall CG. Acute limb heating improves macro- and microvascular dilator function in the leg of aged humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2017;312:H89-97.
17. Gravel H, Coombs GB, Behzadi P, et al. Acute effect of Finnish sauna bathing on brachial artery flow-mediated dilation and reactive hyperemia in healthy middle-aged and older adults. *Physiol Rep* 2019;7:e14166.
18. Gayda M, Paillard F, Sosner P, et al. Effects of sauna alone and post-exercise sauna baths on blood pressure and hemodynamic variables in patients with untreated hypertension. *J Clin Hypertens* 2012;14:553-60.
19. Laukkanen T, Kunutsor SK, Zaccardi F, et al. Acute effects of sauna bathing on cardiovascular function. *J Hum Hypertens* 2018;32:129-38.
20. Radtke T, Poerschke D, Wilhelm M, et al. Acute effects of Finnish sauna and cold-water immersion on haemodynamic variables and autonomic nervous system activity in patients with heart failure. *Eur J Prev Cardiol* 2016;23:593-601.
21. Cleland CL, Hunter RF, Kee F, Cupples ME, Sallis JF, Tully MA. Validity of the Global Physical Activity Questionnaire (GPAQ) in assessing levels and change in moderate-vigorous physical activity and sedentary behaviour. *BMC Public Health* 2014;14:1255.
22. Thijssen DH, Black MA, Pyke KE, et al. Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011;300:H2-12.
23. Ramanathan NL. A new weighting system for mean surface temperature of the human body. *J Appl Physiol* 1964;19:531-3.
24. Inaba Y, Chen JA, Bergmann SR. Prediction of future cardiovascular outcomes by flow-mediated vasodilatation of brachial artery: a meta-analysis. *Int J Cardiovasc Imaging* 2010;26:631-40.
25. Atkinson G, Batterham AM. The percentage flow-mediated dilation index: a large-sample investigation of its appropriateness, potential for bias and causal nexus in vascular medicine. *Vasc Med* 2013;18:354-65.
26. Kunutsor SK, Hakkinen A, Zaccardi F, et al. Short-term effects of Finnish sauna bathing on blood-based markers of cardiovascular function in nonnaive sauna users. *Heart Vessels* 2018;33:1515-24.
27. Laukkanen T, Lipponen J, Kunutsor SK, et al. Recovery from sauna bathing favorably modulates cardiac autonomic nervous system. *Complement Ther Med* 2019;45:190-7.
28. Lee E, Laukkanen T, Kunutsor SK, et al. Sauna exposure leads to improved arterial compliance: findings from a nonrandomised experimental study. *Eur J Prev Cardiol* 2018;25:130-8.
29. Giannetti N, Juneau M, Arsenault A, et al. Sauna-induced myocardial ischemia in patients with coronary artery disease. *Am J Med* 1999;107:228-33.
30. Vasan RS, Larson MG, Leip EP, et al. Impact of high-normal blood pressure on the risk of cardiovascular disease. *N Engl J Med* 2001;345:1291-7.
31. Vita JA, Keaney JF Jr, Larson MG, et al. Brachial artery vasodilator function and systemic inflammation in the Framingham Offspring Study. *Circulation* 2004;110:3604-9.
32. Pedersen BK. Antiinflammatory effects of exercise: role in diabetes and cardiovascular disease. *Eur J Clin Invest* 2017;47:600-11.
33. Laukkanen JA, Laukkanen T. Sauna bathing and systemic inflammation. *Eur J Epidemiol* 2018;33:351-3.



APPROUVÉ / APPROVED  
Comité d'éthique ICM  
MHI – Research Ethics Board  
Date : 27 août 2020

## FORMULAIRE D'INFORMATION ET DE CONSENTEMENT

### PROJET DE RECHERCHE : ICM 2019-2507

Effets aigus d'une exposition à la chaleur sur la sensibilité à l'insuline et la fonction vasculaire de diabétiques de type II.

#### Diabète-Chaleur

#### Chercheur principal et cochercheurs

Daniel Gagnon (PhD), Martin Juneau (MD), Anil Nigam (MD), Martin Sirois (PhD), Parya Behzadi (MSc), Céline Ferland (Inf.).

#### Commanditaires ou organismes subventionnaires

Fonds de Recherche du Québec – Santé

### PRÉAMBULE<sup>1</sup>

Nous vous invitons à participer à ce projet de recherche parce que vous présentez un diagnostic de diabète de type II. Vous êtes entièrement libre d'accepter ou de refuser de participer.

Avant d'accepter de participer à ce projet et de signer ce formulaire d'information et de consentement, veuillez prendre le temps de lire, de comprendre et de considérer attentivement les renseignements qui suivent.

Ce formulaire peut contenir des mots que vous ne comprenez pas. Nous vous invitons à poser toutes les questions que vous jugerez utiles au chercheur responsable du projet ou aux autres membres du personnel affectés au projet de recherche et à leur demander de vous expliquer tout mot ou renseignement qui n'est pas clair.

La participation simultanée à plusieurs projets de recherche peut affecter les résultats de ces projets et/ou être dangereuse pour vous. Si vous participez déjà à une étude clinique, veuillez en aviser le chercheur responsable de l'étude.

<sup>1</sup> Le genre masculin, employé pour alléger le texte, désigne autant les femmes que les hommes.

## NATURE ET OBJECTIFS DU PROJET DE RECHERCHE

Le diabète de type II, représentant 90% des cas de diabète, est une maladie chronique associée avec des niveaux élevés de glucose (sucre) dans le sang. Mondialement, 415 millions de personnes seraient atteintes par le diabète et il est prévu que ce chiffre atteigne 642 millions d'ici 2040. Un niveau élevé de glucose sanguin induit, entre autres, une détérioration de la santé des vaisseaux sanguins qui prédispose les gens atteints par le diabète de type II à un risque élevé de mortalité cardiovasculaire. Il est donc important d'identifier des interventions qui améliorent le contrôle du glucose sanguin afin de prévenir le développement de complications liées au diabète de type II.

Depuis quelques années, l'exposition à la chaleur reçoit une attention particulière pour son potentiel thérapeutique. Par exemple, des recherches démontrent que l'exposition à la chaleur améliore la réactivité vasculaire, un indice de la santé des vaisseaux sanguins. D'autres recherches suggèrent que l'exposition à la chaleur pourrait également améliorer le contrôle du glucose sanguin. Néanmoins, peu d'études se sont intéressées aux bienfaits potentiels de l'exposition à la chaleur pour les gens atteints par le diabète de type II.

L'objectif de ce projet est d'évaluer l'effet immédiat d'un bain chaud sur le contrôle du glucose sanguin et la réactivité vasculaire de personnes atteintes par le diabète de type II. Ce projet s'inscrit dans un objectif plus large visant à déterminer si l'exposition à la chaleur est une habitude de vie recommandable pour améliorer la santé cardiovasculaire.

## NOMBRE DE PARTICIPANTS ET DURÉE DE LA PARTICIPATION

Vingt (20) participants prendront part à ce projet de recherche qui se déroulera au Centre ÉPIC de l'Institut de Cardiologie de Montréal. Si vous acceptez de participer au projet, votre participation comportera 3 visites totalisant environ 17 heures.

## FINANCEMENT DU PROJET DE RECHERCHE

Le chercheur responsable du projet a reçu un financement d'un organisme subventionnaire, le Fonds de Recherche du Québec - Santé, pour mener à bien ce projet de recherche.

## DÉROULEMENT DU PROJET DE RECHERCHE

Votre participation au projet de recherche implique 1 visite préliminaire et 2 visites expérimentales au Centre ÉPIC de l'Institut de Cardiologie de Montréal.

### Visite préliminaire – durée de 60 minutes

Lors de cette visite, toutes les procédures vous seront expliquées et les instruments de mesure qui seront utilisés lors du projet vous seront présentés. Les chercheurs responsables du projet prendront le temps de répondre à toutes vos questions. Si vous acceptez de participer au projet, nous vous demanderons de signer le formulaire de consentement. Ensuite, nous ferons la révision de votre état de santé, de vos fonctions cognitives et de vos habitudes de vie à l'aide de formulaires. Votre taille, votre poids et votre composition corporelle seront mesurés. Ensuite, nous vous demanderons de vous coucher sur le dos pour 10 minutes afin de mesurer votre rythme cardiaque à l'aide d'un électrocardiogramme et votre pression artérielle à l'aide d'un appareil automatique.

Visites expérimentales – durée de 7 à 8 heures chacune

Avant de vous présenter au laboratoire le matin de chacune des visites, vous devrez avaler un comprimé spécial qui vous aura été remis auparavant pour mesurer la température interne de votre corps. À votre arrivée au laboratoire, nous vous demanderons de fournir un échantillon d'urine et de vous peser nu, en privé. Vous devrez par la suite vous vêtir d'un maillot de bain et vous coucher sur un lit pour une période de repos d'environ 30 minutes. Durant cette période, nous prendrons des mesures de votre pression artérielle à l'aide d'un appareil automatique et un cathéter sera inséré dans une veine périphérique afin de prélever des échantillons sanguins. Nous effectuerons également une mesure de la réactivité vasculaire et vous devrez effectuer des tests cognitifs qui cibleront la mémoire et l'attention.

Suite à la mesure de la réactivité vasculaire, vous serez immergé jusqu'aux épaules dans un bain dont la température de l'eau sera chaude (40-41°C) ou neutre (32-33°C). Lors du bain chaud, vous resterez immergé jusqu'aux épaules jusqu'à ce que votre température interne atteigne 38.5°C (~30-45 minutes). À ce moment, un banc sera placé dans le bain pour que vous puissiez vous asseoir et être immergé jusqu'aux hanches. Vous resterez assis dans le bain pour 60 minutes additionnelles. Pour la durée du bain chaud, vous serez encouragé à consommer environ 200 ml d'eau aux 15 minutes afin de minimiser la déshydratation. Lors du bain neutre, vous resterez immergé jusqu'aux épaules pour 30 minutes avant de vous asseoir et être immergé jusqu'aux hanches pour 60 minutes additionnelles. Vous pourrez consommer de l'eau à volonté lors du bain neutre.

À la fin du bain (chaud ou neutre), vous sortirez du bain et nous vous demanderons de vous peser nu en privé avant de vous recoucher sur un lit pour une période de 4 heures. Durant la première heure, nous effectuerons deux mesures de la réactivité vasculaire et les tests cognitifs seront répétés. À la fin de la première heure, nous vous demanderons de consommer une solution sucrée qui nous permet de quantifier la capacité de votre corps à contrôler le glucose sanguin. Pour ce faire, nous prélèverons des échantillons sanguins à des intervalles réguliers durant les 3 heures suivant la consommation de la solution sucrée. Nous effectuerons également des mesures de la réactivité vasculaire chaque heure et les tests cognitifs seront répétés entre chaque mesure de réactivité vasculaire. À la fin de la période de 4 heures, tous les instruments de mesure seront enlevés et nous vous demanderons de vous peser nu, en privé.

Les procédures décrites seront les mêmes lors des 2 visites expérimentales. La différence entre les 2 visites sera la température de l'eau du bain (chaud ou neutre). Les visites se dérouleront lors de journées distinctes, séparées par un minimum de 72 heures. L'ordre des visites sera déterminé au hasard, comme lors d'un tirage à pile ou face. Le tableau suivant résume votre participation au projet de recherche.

	Visite Préliminaire	Visite expérimentale 1	Visite expérimentale 2
<b>Durée :</b>	60 minutes	7-8 heures	7-8 heures
<b>Lieu :</b>	Centre ÉPIC	Centre ÉPIC	Centre ÉPIC
<b>MESURES</b>			
Historique de santé, fonctions cognitives et habitudes de vie	X		
Taille et composition corporelle	X		
Poids corporel	X	X	X
Rythme et fréquence cardiaque	X	X	X
Pression artérielle	X	X	X
Échantillons d'urine		X	X
Prélèvements sanguins		X	X
Température interne		X	X
Température orale		X	X
Températures de la peau		X	X
Flux sanguin cutané		X	X
Confort thermique		X	X
Réactivité vasculaire		X	X
Ingestion de glucose		X	X
Tests cognitifs		X	X

### Description des mesures

Historique de santé et habitudes de vie : Nous évaluerons votre historique de santé, votre état cognitif général et vos habitudes de vie à l'aide de formulaires.

Taille et composition corporelle : Votre taille sera mesurée à l'aide d'une règle fixée sur un mur. Votre composition corporelle sera estimée à l'aide d'une balance à impédance bioélectrique.

Poids corporel : Vous devrez mesurer votre poids corporel complètement nu. Nous vous fournirons une balance pour que vous puissiez vous peser en privé.

Rythme et fréquence cardiaque : Des électrodes seront collées sur la peau de votre poitrine pour mesurer votre rythme cardiaque à l'aide d'un électrocardiogramme. Il est possible que l'on soit obligé de raser votre peau à l'aide d'un rasoir jetable pour assurer un bon contact entre les électrodes et la peau. Une courroie ajustable sera également placée autour de la poitrine pour mesurer votre fréquence cardiaque.

Pression artérielle : Votre pression artérielle sera mesurée à l'aide d'un appareil automatique. Un brassard sera placé sur votre bras pour effectuer cette mesure.

Échantillons d'urine : Vous devrez fournir des échantillons d'urine pour que l'on puisse mesurer votre niveau d'hydratation. Nous vous fournirons un récipient en plastique pour que vous puissiez fournir un échantillon en privé.

Prélèvements sanguins : Un cathéter sera inséré dans une veine périphérique afin de prélever des échantillons sanguins. Quinze (15) échantillons sanguins seront prélevés lors de chacune des visites expérimentales. Nous prélèverons environ une cuillère à thé (~4 à 7 ml) par échantillon, pour un total d'environ 150 ml de sang lors de chacune des visites expérimentales.

Température interne : Afin de mesurer la température interne de votre corps, nous vous demanderons d'avalier un comprimé spécial à votre réveil les matins des visites expérimentales. Le comprimé est d'une grosseur équivalente à un large multivitaminé et transmet sa température à un récepteur (à l'extérieur du corps) lors de son passage à travers le système digestif. Il est ensuite éliminé normalement dans les selles.

Température orale : La température de votre corps sera également mesurée à l'aide d'un thermomètre oral placé sous la langue.

Températures de la peau : Des capteurs sans fil seront apposés sur votre peau à l'aide de ruban adhésif hypoallergénique. Ces capteurs permettent de mesurer la température de la peau. Il est possible que l'on soit obligé de raser votre peau à l'aide d'un rasoir jetable pour assurer un bon contact entre les capteurs et la peau.

Flux sanguin cutané : Des capteurs laser flexibles seront utilisés pour mesurer la quantité de sang qui circule au niveau de la peau. Les capteurs seront placés à l'intérieur d'un disque qui les tient en place. Les disques seront apposés sur la peau de votre avant-bras.

Confort thermique : Nous vous demanderons de juger votre confort et sensation thermique lors des bains. Des échelles numériques vous seront présentées et vous devrez pointer au chiffre correspondant à votre degré de confort et de sensation thermique.

Réactivité vasculaire : Un brassard placé autour de l'un de vos avant-bras sera gonflé à une pression qui empêchera le sang de circuler à travers le brassard. Cette pression sera maintenue pour une période de 5 minutes. Durant cette période, nous visualiserons de façon continue l'artère de votre bras à l'aide d'une échographie. Après 5 minutes, le brassard se dégonflera et nous continuerons à visualiser l'artère de votre bras pour une période 3 minutes. Cette procédure nous permet de quantifier la capacité de l'artère de votre bras à se dilater (élargir) en réponse à une augmentation du débit sanguin.

Ingestion de glucose : Nous vous demanderons de consommer une boisson contenant 75 grammes de glucose dissous dans 300 ml d'eau. L'ingestion de cette boisson augmente temporairement le niveau de glucose dans le sang et nous permet de quantifier l'habileté de votre corps à éliminer le glucose du sang.

Tests cognitifs : Une évaluation de votre mémoire et de votre attention se fera à l'aide de tests papier crayon et de tests sur tablette électronique (iPad) ciblant la vitesse de traitement, la concentration et les fonctions exécutives (habileté à réagir dans de nouvelles situations).

### COLLABORATION DU PARTICIPANT

Pour assurer votre bien-être lors de votre participation à l'étude et pour ne pas influencer les résultats du projet, nous vous demandons de suivre les consignes suivantes :

- Arriver à jeun (12 heures) pour les visites expérimentales.
- Ne pas prendre de médicaments antidiabétiques au moins 24 heures avant l'arrivée au laboratoire pour les visites expérimentales.
- Ne pas faire d'activité physique intense (24 heures), ne pas fumer (12 heures) et ne pas consommer de l'alcool, de la caféine et/ou des boissons énergisantes (12 heures) avant les visites expérimentales.
- Vous assurez d'être bien hydraté, en consommant 250 ml d'eau le soir précédent, ainsi que le matin avant les visites expérimentales.
- Maintenir vos habitudes pour la durée de votre participation au projet en évitant d'augmenter votre niveau d'activité physique et/ou d'exposition à la chaleur.
- Éviter de participer simultanément à d'autres projets de recherche.
- Obtenir une bonne nuit de sommeil avant chaque visite au Centre ÉPIC.
- Déclarer tous les médicaments, suppléments et/ou produits naturels que vous utilisez.
- Éviter les dons de sang pour la durée de votre participation à l'étude.
- Déclarer si vous ressentez des symptômes de COVID-19 lors de l'appel la veille et à votre arrivée le matin de chacune des visites au Centre ÉPIC.

### RISQUES ASSOCIÉS AU PROJET DE RECHERCHE

En participant à ce projet de recherche, vous pourriez être exposés à des interventions et des mesures qui comportent des risques particuliers, voire inconnus, inattendus ou imprévisibles. La présente section vise à décrire les risques prévisibles associés à votre participation à ce projet de recherche.

#### Risques reliés aux prélèvements sanguins

Il est possible que vous ressentiez un inconfort lors des prélèvements sanguins. Vous pourriez voir une décoloration ou une ecchymose au site du prélèvement. Très rarement, une infection pourrait apparaître au site du prélèvement.

#### Risques reliés à l'exposition à la chaleur

Il se pourrait que vous ressentiez un inconfort lors du bain chaud. Vous pourriez ressentir une augmentation de votre fréquence cardiaque, un sentiment d'avoir chaud et d'être en sueur, des étourdissements et/ou de la fatigue. La température de votre corps sera surveillée lors du bain chaud et elle n'atteindra pas des niveaux dangereux. S'il vous arrive de ne plus être en mesure de tolérer l'exposition à la chaleur, vous sortirez du bain afin de vous refroidir.

#### Risques reliés au comprimé mesurant la température interne

Vous ne devez pas subir un examen d'imagerie par résonance magnétique (IRM) tant que le comprimé n'a pas été éliminé de votre système. Vous devez avertir un membre de l'équipe de recherche si vous planifiez subir un tel examen pendant votre participation au projet. Dans ce cas, vous devrez retourner au laboratoire pour que nous puissions

confirmer que la pilule a été éliminée de votre système avant votre examen. Quoique très rare, il existe des risques théoriques à avaler le comprimé pour mesurer la température interne de votre corps. Vous pourriez vous étouffer si le comprimé est avalé dans les voies respiratoires. Le comprimé pourrait également causer une perforation, un blocage et/ou une infection du tractus intestinal qui nécessiterait une chirurgie pour le retirer. Par contre, de tels incidents ne se sont jamais produits selon l'expérience du chercheur principal de ce projet. Le comprimé ne devrait pas être avalé si vous pesez moins de 80 livres (36.4 kg) et/ou si vous avez un antécédent de maladies gastro-intestinales et/ou de chirurgies gastro-intestinales et/ou si vous avez un dispositif médical implanté.

#### Tests cognitifs

Le personnel qui effectuera les tests cognitifs prévus dans cette étude a reçu une formation à cet effet. Dans l'éventualité où le personnel dénotait une quelconque difficulté au niveau cognitif, les mesures nécessaires seront prises pour vous orienter vers les ressources appropriées. Si besoin, une référence pour une consultation médicale en externe en neurologie pourrait être effectuée. Veuillez noter que les tests neuropsychologiques utilisés dans cette étude sont des outils de dépistage généraux et ne servent pas à des fins diagnostiques.

Ingestion de glucose : Quoique très rare, des nausées et/ou des vomissements sont possibles suite à l'ingestion du glucose. Nous arrêterons la prise des mesures si de telles réactions se produisent.

#### Risques reliés à la COVID-19

En participant à ce projet de recherche vous pourriez vous exposer à un plus grand risque de contracter la COVID-19. Des mesures préventives seront mises en place lors de votre participation au projet pour minimiser ce risque. Un membre de l'équipe de recherche vous contactera par téléphone la veille de chacune des visites au Centre ÉPIC pour vous demander si vous présentez des symptômes de COVID-19. À votre arrivée au Centre ÉPIC, un membre de l'équipe de recherche vous demandera à nouveau si vous présentez des symptômes de COVID-19 et vous devrez vous laver les mains et porter un masque. Vous devrez également laver vos mains à l'entrée et à la sortie du laboratoire. Finalement, les membres de l'équipe de recherche porteront un masque et se laveront les mains régulièrement.

### **INCONVÉNIENTS ASSOCIÉS AU PROJET DE RECHERCHE**

Votre participation à ce projet de recherche nécessite 3 visites, dont 2 de plusieurs heures, au Centre ÉPIC de l'Institut de Cardiologie de Montréal. Vous devrez donc vous y rendre et consacrer du temps pour participer à l'étude.

### **AVANTAGES**

Vous ne retirerez aucun bénéfice personnel de votre participation à ce projet de recherche. Toutefois, les résultats obtenus contribueront à l'avancement des connaissances dans ce domaine.

### **PARTICIPATION VOLONTAIRE ET DROIT DE RETRAIT**

Votre participation à ce projet de recherche est volontaire. Vous êtes donc libre de refuser d'y participer. Vous pouvez également vous retirer de ce projet à n'importe quel moment, sans avoir à donner de raisons, en informant l'équipe de recherche.



Votre décision de ne pas participer à ce projet de recherche ou de vous en retirer n'aura aucune conséquence sur la qualité des soins et des services auxquels vous avez droit ou sur votre relation avec les équipes qui les dispensent.

Le chercheur responsable de ce projet de recherche, le comité d'éthique de la recherche, ou l'organisme subventionnaire peuvent mettre fin à votre participation, sans votre consentement. Cela peut se produire si de nouvelles découvertes ou informations indiquent que votre participation au projet n'est plus dans votre intérêt, si vous ne respectez pas les consignes du projet de recherche ou encore s'il existe des raisons administratives d'abandonner le projet.

Si vous vous retirez du projet ou êtes retiré du projet, l'information et le matériel déjà recueillis dans le cadre de ce projet seront néanmoins conservés, analysés ou utilisés pour assurer l'intégrité du projet.

Toute nouvelle connaissance acquise durant le déroulement du projet qui pourrait avoir un impact sur votre décision de continuer à participer à ce projet vous sera communiquée rapidement.

### **CONFIDENTIALITÉ**

Durant votre participation à ce projet de recherche, le chercheur responsable de ce projet ainsi que les membres de son personnel de recherche recueilleront, dans un dossier de recherche, les renseignements vous concernant et nécessaires pour répondre aux objectifs scientifiques de ce projet de recherche.

Ces renseignements contiennent des informations concernant votre état de santé passé et présent, vos habitudes de vie, ainsi que les résultats de tous les tests, examens et procédures qui seront réalisés dans le cadre du projet de recherche.

Les échantillons sanguins seront acheminés au Centre de recherche de l'Institut de Cardiologie de Montréal où ils seront conservés jusqu'à l'analyse et ensuite détruits.

Tous les renseignements recueillis demeureront confidentiels dans les limites prévues par la loi. Vous ne serez identifié que par un numéro de code. La clé du code reliant votre nom à votre dossier de recherche sera conservée par le chercheur responsable de ce projet de recherche.

Les données de recherche seront conservées pendant au moins 25 ans par le chercheur responsable de ce projet de recherche.

Les données de recherche pourront être publiées ou faire l'objet de discussions scientifiques, mais il ne sera pas possible de vous identifier.

À des fins de surveillance, de contrôle, de protection et de sécurité, votre dossier de recherche pourra être consulté par une personne mandatée par des représentants du comité d'éthique de la recherche. Ces personnes adhèrent à une politique de confidentialité.

Vous avez le droit de consulter votre dossier de recherche pour vérifier les renseignements recueillis et les faire rectifier au besoin.

### EN CAS DE PRÉJUDICE

Si vous deviez subir quelque préjudice que ce soit par suite de toute procédure reliée à ce projet de recherche, vous recevrez tous les soins et services requis par votre état de santé.

En acceptant de participer à ce projet de recherche, vous ne renoncez à aucun de vos droits et vous ne libérez pas le chercheur responsable de ce projet de recherche et l'établissement de leur responsabilité civile et professionnelle.

### COMPENSATION

En guise de compensation pour les frais encourus en raison de votre participation au projet de recherche, vous recevrez un montant de 100\$ par visite expérimentale, pour un total de 2 visites, soit un montant total de 200\$. Si vous vous retirez du projet (ou s'il est mis fin à votre participation) avant qu'il ne soit complété, la compensation sera proportionnelle à la durée de votre participation. Un coupon échangeable contre un repas du jour au bistro du Centre ÉPIC vous sera également remis après chacune des visites en laboratoire.

### IDENTIFICATION DES PERSONNES-RESSOURCES

Si vous avez des questions ou éprouvez des problèmes en lien avec le projet de recherche, ou si vous souhaitez vous en retirer, vous pouvez communiquer en tout temps avec le médecin responsable ou avec une personne de l'équipe de recherche aux numéros suivants :

#### **Institut de Cardiologie de Montréal**

Daniel Gagnon, PhD, Chercheur : Tél. : 514 376-3330 (poste 4205)

Équipe de recherche : Tél. : 514 376-3330 (poste 4342)

Pour toute question concernant vos droits en tant que participant à ce projet de recherche ou si vous avez des plaintes ou des commentaires à formuler, vous pouvez communiquer avec :

Le Commissaire local aux plaintes et à la qualité des services de l'Institut de Cardiologie de Montréal au numéro suivant : 514 376-3330, poste 3398.

### APPROBATION PAR LE COMITÉ D'ÉTHIQUE DE LA RECHERCHE

Le comité d'éthique de la recherche et du développement des nouvelles technologies de l'Institut de Cardiologie de Montréal a approuvé ce projet de recherche et en assurera le suivi. Il approuvera toute révision et toute modification apportée au formulaire d'information et de consentement et au protocole de recherche.



## FORMULAIRE DE CONSENTEMENT

### PROJET DE RECHERCHE : ICM 2019-2507

Effets aigus d'une exposition à la chaleur sur la sensibilité à l'insuline et la fonction vasculaire de diabétiques de type II.

#### Diabète-Chaleur

#### Chercheur principal et cochercheurs

Daniel Gagnon (PhD), Martin Juneau (MD), Anil Nigam (MD), Martin Sirois (PhD), Parya Behzadi (MSc), Céline Ferland (Inf.).

#### Commanditaires ou organismes subventionnaires

Fonds de Recherche du Québec – Santé

J'ai pris connaissance du formulaire d'information et de consentement. On m'a expliqué le projet de recherche et le présent formulaire d'information et de consentement. On a répondu à mes questions et on m'a laissé le temps voulu pour prendre une décision. Après réflexion, je consens à participer à ce projet de recherche aux conditions qui y sont énoncées.

J'autorise l'équipe de recherche à avoir accès à mon dossier médical.

J'autorise le chercheur responsable de la présente recherche à communiquer avec moi afin de me demander si je suis intéressé(e) à participer à d'autres recherches.

<p>Dans l'éventualité où les résultats obtenus dans cette recherche donneraient lieu à l'élaboration d'un autre projet de recherche (sous-étude ou nouvelle recherche découlant directement de ce projet), j'accepte d'être recontacté pour que l'on me demande si je suis intéressé à participer à cette sous-étude ou ce nouveau projet.</p>	<input type="checkbox"/> J'accepte	<input type="checkbox"/> Je refuse
--	---------------------------------------	---------------------------------------

**Nom du participant**

**Signature**

**Date (jj-mm-aaaa)**

### Signature de la personne qui a obtenu le consentement

J'ai expliqué au participant le projet de recherche et le présent formulaire d'information et de consentement et j'ai répondu aux questions qu'il m'a posées.

**Nom de la personne qui obtient le consentement**

**Signature**

**Date (jj-mm-aaaa)**

**Engagement du chercheur responsable**

Je certifie qu'on a expliqué au participant les termes du présent formulaire d'information et de consentement, que l'on a répondu aux questions qu'il avait à cet égard et qu'on lui a clairement indiqué qu'il demeure libre de mettre un terme à sa participation.

Je m'engage, avec l'équipe de recherche, à respecter ce qui a été convenu au formulaire d'information et de consentement et à en remettre une copie signée et datée au participant.

---

*Nom du chercheur responsable**Signature**Date (jj-mm-aaaa)***SIGNATURE D'UN TÉMOIN** OUI     NON

La signature d'un témoin est requise pour les raisons suivantes :

- Difficulté ou incapacité à lire - La personne (témoin impartial) qui appose sa signature ci-dessous atteste qu'on a lu le formulaire de consentement et qu'on a expliqué précisément le projet au (à la) participant(e), qui semble l'avoir compris.
- Incompréhension de la langue du formulaire de consentement - La personne qui appose sa signature ci-dessous a fait fonction d'interprète pour le ou la participant(e) au cours du processus visant à obtenir le consentement.

---

*Nom du témoin**Signature**Date (jj-mm-aaaa)*

**N.B. :** Une copie signée et datée du présent formulaire d'information et de consentement sera déposée au dossier du participant, une copie gardée par le chercheur principal et une copie remise au participant.



APPROUVÉ / APPROVED  
Comité d'éthique ICM  
MHI – Research Ethics Board  
Date : 22 mars 2018

## FORMULAIRE D'INFORMATION ET DE CONSENTEMENT

### PROJET DE RECHERCHE : ICM #2017-2179

Les effets aigus d'un bain sauna sur la fonction vasculaire.

#### Sauna et FMD

#### Investigateur principal et collaborateurs

**Daniel Gagnon (PhD)**, Michel White (MD), Martin Juneau (MD), Anil Nigam (MD),  
Christine Henri (MD), Lukas Trachsel (MD), Mathieu Gayda (PhD),  
Julie Lalongé (A.R.), Martin Sirois (PhD), Hugo Gravel (PhD), Hadiatou Barry (BSc),  
Parya Yousefi Behzadi (MSc).

#### Organisme subventionnaire

Fonds de Recherche du Québec – Santé

### PRÉAMBULE<sup>1</sup>

Nous vous invitons à participer à ce projet de recherche parce que vous êtes soit :

- Un homme ou une femme en santé, âgé(e) entre 18 et 35 ans ;
- Un homme ou une femme en santé, âgé(e) de 50 ans ou plus ;
- Un homme ou une femme âgé(e) de 50 ans ou plus et atteint(e) d'une maladie coronarienne ;
- Un homme ou une femme âgé(e) de 50 ans ou plus et atteint(e) de diabète de type 2.
- Un homme ou une femme âgé(e) de 50 ans ou plus et atteint(e) d'une insuffisance cardiaque.

Vous êtes entièrement libre d'accepter ou de refuser de participer. Avant d'accepter de participer à ce projet et de signer ce formulaire d'information et de consentement, veuillez prendre le temps de lire, de comprendre et de considérer attentivement les renseignements qui suivent.

Ce formulaire peut contenir des mots que vous ne comprenez pas. Nous vous invitons à poser toutes les questions que vous jugerez utiles au chercheur responsable du projet ou aux autres membres du personnel affectés au projet de recherche et à leur demander de vous expliquer tout mot ou renseignement qui n'est pas clair.

<sup>1</sup> Le genre masculin, employé pour alléger le texte, désigne autant les femmes que les hommes.

La participation simultanée à plusieurs projets de recherche peut être dangereuse pour vous. Elle pourrait également affecter les résultats de ce projet. Si vous participez déjà à une autre étude, veuillez en aviser le chercheur responsable de ce projet.

### **NATURE ET OBJECTIFS DU PROJET DE RECHERCHE**

Les maladies cardiovasculaires demeurent la première cause de décès au monde, deuxième au Canada. Parmi les facteurs qui prédisposent un individu à développer une maladie cardiovasculaire, l'âge confère le plus grand risque. Le nombre de personnes atteintes par une maladie cardiovasculaire augmente de façon marquée passé l'âge de 50 ans. Une détérioration de l'état physiologique accompagne le vieillissement et représente une composante importante au développement des maladies cardiovasculaires. Heureusement, il est possible de maintenir un bon état physiologique afin d'optimiser la santé et le bien-être. Il est donc important d'identifier des interventions qui améliorent l'état physiologique afin de prévenir le développement des maladies cardiovasculaires et/ou d'améliorer l'état de santé de gens souffrant d'une maladie cardiovasculaire.

Des études suggèrent que l'exposition à la chaleur améliore l'état physiologique. Entre autres, l'exposition à la chaleur a un effet puissant sur la fonction des vaisseaux sanguins. Une mauvaise fonction des vaisseaux sanguins prédispose les personnes âgées aux maladies cardiovasculaires les plus courantes : la maladie coronarienne, l'insuffisance cardiaque et l'accident vasculaire cérébral. Nous ne savons pas si une exposition modérée à la chaleur, tel qu'un bain sauna de 10 à 20 minutes, fournit un stimulus adéquat pour améliorer la fonction des vaisseaux sanguins. Nous ne savons pas non plus si l'exposition à la chaleur est bénéfique pour la santé des vaisseaux sanguins des personnes âgées, présentant ou non une maladie cardiovasculaire.

L'objectif de ce projet est d'évaluer les effets d'un bain sauna sur la fonction des vaisseaux sanguins de jeunes adultes en santé, ainsi que de personnes âgées de 50 ans ou plus présentant, ou non, une maladie cardiovasculaire ou le diabète de type 2.

105 personnes participeront à ce projet de recherche qui se déroulera au Centre ÉPIC de l'Institut de cardiologie de Montréal. Si vous acceptez de participer à ce projet de recherche, votre participation comportera 4 visites.

### **FINANCEMENT DU PROJET DE RECHERCHE**

Ce projet est financé par les Fonds de Recherche du Québec – Santé, un organisme gouvernemental qui accorde des fonds à l'ICM et à ses chercheurs pour gérer des projets de recherche.

### **DÉROULEMENT DU PROJET DE RECHERCHE**

#### Visite 1 - durée de 60 min - au Centre ÉPIC :

Lors de votre première visite, toutes les procédures vous seront expliquées et les instruments de mesure qui seront utilisés lors de l'étude vous seront démontrés. Les chercheurs responsables du projet prendront le temps de répondre à toutes vos questions. Si vous acceptez de participer à l'étude, nous vous demanderons de signer le formulaire de consentement. Ensuite, nous ferons la révision de votre état de santé à l'aide d'un formulaire. Votre taille et votre poids seront mesurés et nous vous demanderons de vous coucher sur le dos pour 10 min. Durant cette période, votre

rythme cardiaque sera mesuré à l'aide d'un électrocardiogramme, votre fréquence cardiaque sera mesurée à l'aide d'une courroie placée autour de la poitrine et votre pression artérielle sera mesurée à l'aide d'un appareil automatique.

Visite 2 – durée d'environ 30 minutes – au Centre ÉPIC :

Lors de cette visite, une infirmière du Centre ÉPIC effectuera un prélèvement sanguin. Vous devrez être à jeun depuis au moins 12h au moment du prélèvement.

Visite 3 - durée de 3 à 4 heures - au Centre ÉPIC :

Vous devrez consommer une collation standardisée 1 h avant de vous présenter au laboratoire. Cette collation vous aura été remise avant votre visite. Suite à votre arrivée au laboratoire, nous vous demanderons de fournir un échantillon d'urine et de vous peser nu, en privé. Vous devrez par la suite vous vêtir de vêtements de sport (short et t-shirt). Des électrodes seront apposées sur votre peau pour mesurer votre rythme cardiaque ; une courroie sera placée autour de votre poitrine pour mesurer votre fréquence cardiaque ; et un brassard sera placé sur l'un de vos bras pour mesurer votre pression sanguine. Vous devrez ensuite vous coucher sur le dos sur un lit pour une période de repos de 30 min. Durant cette période de repos, nous prendrons des mesures de votre pression sanguine à l'aide d'un appareil automatique ; nous prendrons des échantillons sanguins à l'aide d'un cathéter veineux et nous évaluerons la capacité de votre cœur à se contracter à l'aide d'une échographie cardiaque.

Suivant la période de repos, nous évaluerons la capacité de l'artère de votre bras à se dilater (élargir) en réponse à une augmentation du flux sanguin. Cette technique se nomme la vasodilatation médiée par le flux. Le brassard placé autour de l'un de vos avant-bras sera gonflé à une pression qui empêchera le sang de circuler à travers le brassard. Cette pression sera maintenue pour une période de 5 minutes. Durant cette période, nous visualiserons de façon continue l'artère de votre bras à l'aide d'une échographie. Après 5 minutes, le brassard se dégonflera et nous continuerons à visualiser l'artère de votre bras pour une période 3 minutes.

Nous vous demanderons ensuite de rester couché pour une période de 20 minutes. Pendant cette période, nous évaluerons à nouveau la capacité de votre cœur à se contracter à l'aide d'une échographie cardiaque et un second prélèvement sanguin sera effectué. Suite à ces mesures, nous évaluerons à nouveau la capacité de l'artère de votre bras à se dilater à l'aide de la technique de vasodilatation médiée par le flux.

Visite 4 – durée de 3 à 4 - au Centre ÉPIC :

Vous devrez consommer une collation standardisée 1 h avant de vous présenter au laboratoire. Cette collation vous aura été remise avant votre visite. Lors de cette visite, nous effectuerons exactement les mêmes mesures décrites pour la visite 3. La seule différence sera qu'au lieu de rester couché pour une durée de 20 minutes suite aux premières mesures, nous vous demanderons d'entrer dans un sauna maintenu à une température d'environ 80°C et d'y rester pour une durée de 10 minutes. Suite au bain sauna, nous retournerons au laboratoire et nous vous demanderons de vous coucher sur le dos pour une période de repos de 30 minutes. Toutes les mesures décrites pour la visite 3 seront effectuées avant et après le bain sauna.

Visite 5 - durée de 3 à 4 heures - au Centre ÉPIC :

Vous devrez consommer une collation standardisée 1 h avant de vous présenter au laboratoire. Cette collation vous aura été remise avant votre visite. Lors de cette visite, nous effectuerons à nouveau les mêmes mesures décrites pour la visite 3. Par contre, suite aux mesures initiales nous vous demanderons d'entrer dans le sauna (80°C) et d'y rester pour un premier bain de 10 min. Suite à ce premier bain, nous vous demanderons de sortir du sauna pour une période de repos de 5-10 min à l'extérieur du sauna. Nous vous demanderons ensuite d'entrer à nouveau dans le sauna pour un deuxième bain de 10 min. Suite aux bains sauna, nous retournerons au laboratoire et nous vous demanderons de vous coucher sur le dos pour une période de repos de 30 min. Toutes les mesures décrites pour la visite 3 seront effectuées avant et après les bains sauna.

Lors des bains sauna des visites 4 et 5, des capteurs seront apposés sur votre peau pour mesurer la température de la peau et nous mesurerons la température de votre corps à chaque 5 minutes. Vous devrez placer un thermomètre oral sous votre langue pour une durée minimale de 1 minute lors de chaque mesure. La température interne de votre corps sera également mesurée par l'entremise d'un comprimé spécial que vous aurez avalé avant de vous rendre au laboratoire. Les bains sauna seront toujours supervisés par 2 membres du personnel de recherche et un de ces membres vous accompagnera dans le sauna. Pour les bains sauna, nous vous demanderons de porter un maillot de bain, d'apporter une serviette de bain et de porter des sandales.

Veillez noter que la séquence dans laquelle vous effectuerez les visites 3, 4 et 5 sera déterminée au hasard, comme lors d'un tirage à pile ou face.

**Instruments de mesure :** Plusieurs instruments de mesure seront utilisés lors de votre participation au projet de recherche. Pour vous familiariser, un tableau est d'abord présenté pour identifier à quel moment chacune des mesures sera effectuée. Une description de chaque instrument de mesure suit le tableau.

**Tableau 1 : Instruments de mesure et quand ils seront utilisés.**

Mesures	Visite 1	Visite 2	Visite 3	Visite 4	Visite 5
Échantillon d'urine			X	X	x
Échantillons sanguins		X	X	X	X
Échographie (bras)			X	X	X
Échographie (cœur)			X	X	X
Fréquence cardiaque	X		X	X	X
Poids corporel	X		X	X	X
Pression sanguine	X		X	X	X
Rythme cardiaque	X		X	X	X
Température orale			X	X	X
Température interne				X	X
Température de la peau			X	X	X



## Description des instruments de mesure

Échantillon d'urine : Vous devrez fournir des échantillons d'urine pour que l'on puisse mesurer votre niveau d'hydratation. Nous vous fournirons un récipient en plastique pour que vous puissiez fournir un échantillon en privé.

Échographie (bras) : Nous utiliserons une échographie pour visualiser l'artère de votre bras. Pour ce faire, une sonde d'échographie sera placée directement sur la peau. Pour bien visualiser l'artère, il y aura du gel sur la sonde.

Échocardiographie (cœur) : Nous utiliserons une échographie pour visualiser votre cœur et quantifier sa capacité à se contracter et se relaxer. Pour ce faire, une sonde d'échographie sera placée sur la peau au niveau de la poitrine. Pour bien visualiser le cœur, il y aura du gel sur la sonde.

Fréquence cardiaque : Votre fréquence cardiaque sera mesurée à l'aide d'une courroie ajustable placée autour de la poitrine.

Poids corporel : Vous devrez mesurer votre poids corporel complètement nu. Nous vous fournirons une balance pour que vous puissiez vous peser en privé.

Pression sanguine : Votre pression sanguine sera mesurée à l'aide d'un appareil automatique. Un brassard sera placé sur votre bras pour effectuer cette mesure.

Rythme cardiaque : Des électrodes seront collées sur la peau de votre poitrine pour mesurer votre rythme cardiaque à l'aide d'un électrocardiogramme. Il est possible que l'on soit obligé de raser votre peau à l'aide d'un rasoir jetable pour assurer un bon contact entre les électrodes et la peau.

Température orale : Lors des sessions de sauna, la température de votre corps sera mesurée à l'aide d'un thermomètre oral placé sous la langue.

Température interne : Afin de mesurer la température interne de votre corps, nous vous demanderons d'avaler un comprimé spécial à votre réveil les matins des visites 4 et 5. Le comprimé est d'une grosseur équivalente à un large multivitaminé et transmet sa température à un récepteur (à l'extérieur du corps) lors de son passage à travers le système digestif. Il est ensuite éliminé normalement dans les selles.

Température de la peau : Des capteurs seront apposés sur votre peau à l'aide de ruban adhésif hypoallergénique. Ces capteurs permettent de mesurer la température de la peau. Il est possible que l'on soit obligé de raser votre peau à l'aide d'un rasoir jetable pour assurer un bon contact entre les capteurs et la peau.

## RISQUES ASSOCIÉS AU PROJET DE RECHERCHE

En participant à ce projet de recherche, vous serez exposé à des interventions et des mesures qui pourraient comporter des risques particuliers. La présente section vise à décrire les risques prévisibles associés à votre participation à ce projet de recherche.

Risques reliés à la prise de sang

Il se pourrait que vous ressentiez un inconfort lors de la prise sanguine. Vous pourriez voir une décoloration ou une ecchymose au site de la prise de sang. Très rarement, une infection pourrait apparaître au site de la prise de sang.

Risques reliés aux bains sauna

Il se pourrait que vous ressentiez un inconfort lors des bains sauna. Vous pourriez ressentir une augmentation de votre fréquence cardiaque, un sentiment d'avoir chaud et d'être en sueur, des étourdissements et/ou de la fatigue. La température de votre corps sera surveillée lors des bains sauna et elle n'atteindra pas des niveaux dangereux.

Risques reliés au comprimé mesurant la température interne

Quoique très rare, il existe des risques théoriques à avaler le comprimé pour mesurer la température interne de votre corps. Vous pourriez vous étouffer si le comprimé est avalé dans les voies respiratoires. Le comprimé pourrait également causer une perforation, un blocage et/ou une infection du tractus intestinal qui nécessiterait une chirurgie pour le retirer. Le comprimé ne devrait pas être avalé si vous pesez moins de 80 livres (36.4 kg) et/ou si vous avez un antécédent de maladies gastro-intestinales et/ou de chirurgies gastro-intestinales et/ou si vous avez un dispositif médical implanté.

**INCONVÉNIENTS ASSOCIÉS AU PROJET DE RECHERCHE**

Votre participation à ce projet de recherche nécessite 5 visites, de plusieurs heures, au laboratoire situé au Centre ÉPIC de l'Institut de cardiologie de Montréal. Vous devrez donc vous y rendre et consacrer du temps pour participer à l'étude.

**RISQUES RELIÉS À LA PROCRÉATION**

Votre participation à ce projet de recherche peut comporter des risques, connus ou non, pour les femmes enceintes, les enfants à naître ou encore les nourrissons allaités au sein. C'est pourquoi les femmes enceintes ou qui allaitent ne peuvent participer à ce projet.

Les femmes susceptibles de devenir enceintes doivent subir un test de grossesse avant leur participation à l'étude. Si vous pensez être devenue enceinte durant votre participation à ce projet, vous devrez le signaler immédiatement au chercheur responsable du projet de recherche afin de discuter des différentes mesures de suivi à entreprendre.

**AVANTAGES**

Vous ne retirerez aucun bénéfice personnel de votre participation à ce projet de recherche. Les résultats obtenus contribueront à l'avancement des connaissances scientifiques dans ce domaine.

**COLLABORATION DU PARTICIPANT**

Pour assurer votre bien-être lors de votre participation à l'étude et pour ne pas influencer les résultats de l'étude, nous vous demandons de suivre les consignes suivantes :

- Arriver à jeun (12 h) pour la visite #2.
- Prendre la collation standardisée 1 heure avant de vous présenter au laboratoire pour les visites 3, 4 et 5.

- Avaler le comprimé pour mesurer la température interne à votre réveil les matins des visites 4 et 5.
- Ne pas faire d'activité physique intense et ne pas consommer de l'alcool, de la caféine et/ou des boissons énergisantes 12 heures avant les visites 3, 4 et 5.
- Vous assurez d'être bien hydraté, en consommant 250 ml d'eau le soir précédent, ainsi que le matin avant les visites 3, 4, et 5.
- Maintenir vos habitudes pour la durée de votre participation à l'étude en évitant d'augmenter votre niveau d'activité physique et/ou d'exposition à la chaleur.
- Éviter de participer simultanément à d'autres projets de recherche.
- Obtenir une bonne nuit de sommeil avant chaque visite au Centre ÉPIC.
- Déclarer tous les médicaments, suppléments et/ou produits naturels que vous utilisez.
- Éviter les dons de sang pour la durée de votre participation à l'étude.

### **PARTICIPATION VOLONTAIRE ET DROIT DE RETRAIT**

Votre participation à ce projet de recherche est volontaire. Vous êtes donc libre de refuser d'y participer. Vous pouvez également vous retirer de ce projet à n'importe quel moment, sans avoir à donner de raisons, en informant l'équipe de recherche.

Votre décision de ne pas participer à ce projet de recherche ou de vous en retirer n'aura aucune conséquence sur la qualité des soins et des services auxquels vous avez droit ou sur votre relation avec les équipes qui les dispensent.

Le chercheur responsable de ce projet de recherche ou le comité d'éthique de la recherche peuvent mettre fin à votre participation, sans votre consentement. Cela peut se produire si de nouvelles découvertes ou informations indiquent que votre participation au projet n'est plus dans votre intérêt, si vous ne respectez pas les consignes du projet de recherche ou encore s'il existe des raisons administratives d'abandonner le projet.

Si vous vous retirez du projet ou êtes retiré du projet, l'information et le matériel déjà recueillis dans le cadre de ce projet seront néanmoins conservés, analysés ou utilisés pour assurer l'intégrité du projet.

Toute nouvelle connaissance acquise durant le déroulement du projet qui pourrait avoir un impact sur votre décision de continuer à participer à ce projet vous sera communiquée rapidement.

### **CONFIDENTIALITÉ**

Durant votre participation à ce projet de recherche, le chercheur responsable de ce projet ainsi que les membres de son personnel de recherche recueilleront, dans un dossier de recherche, les renseignements vous concernant et nécessaires pour répondre aux objectifs scientifiques de ce projet de recherche.

Ces renseignements peuvent comprendre les informations contenues dans votre dossier médical, incluant votre identité, concernant votre état de santé passé et présent, vos habitudes de vie ainsi que les résultats de tous les tests, examens et procédures qui seront réalisés. Votre dossier peut aussi comprendre d'autres renseignements tels que votre nom, votre sexe, votre date de naissance et votre origine ethnique.

Les échantillons sanguins prélevés pour ce projet de recherche seront utilisés aux fins exclusives du présent projet puis détruits après analyse. Les échantillons seront analysés au service de biochimie médicale de l'Institut de Cardiologie de Montréal.

Tous les renseignements recueillis demeureront confidentiels dans les limites prévues par la loi. Vous ne serez identifié que par un numéro de code. La clé du code reliant votre nom à votre dossier de recherche sera conservée par le chercheur responsable de ce projet de recherche.

Pour assurer votre sécurité, une copie du formulaire de consentement sera versée dans votre dossier médical. Par conséquent, toute personne ou compagnie à qui vous donnerez accès à votre dossier médical aura accès à ces informations.

Les données de recherche seront conservées pendant au moins 25 ans par le chercheur responsable de ce projet de recherche.

Les données de recherche pourront être publiées ou faire l'objet de discussions scientifiques, mais il ne sera pas possible de vous identifier.

À des fins de surveillance, de contrôle, de protection et de sécurité, votre dossier de recherche ainsi que vos dossiers médicaux pourront être consultés par des représentants de l'établissement ou du comité d'éthique de la recherche. Ces personnes adhèrent à une politique de confidentialité.

Vous avez le droit de consulter votre dossier de recherche pour vérifier les renseignements recueillis et les faire rectifier au besoin.

### **EN CAS DE PRÉJUDICE**

Si vous deviez subir quelque préjudice causé par votre participation à ce projet de recherche, vous recevrez tous les soins et services requis par votre état de santé.

En acceptant de participer à ce projet de recherche, vous ne renoncez à aucun de vos droits et vous ne libérez pas le chercheur responsable de ce projet de recherche et l'établissement de leur responsabilité civile et professionnelle.

### **COMPENSATION**

Vos frais de déplacement ou de stationnement en lien avec votre participation au projet de recherche seront remboursés sur présentation de facture. La somme de ces frais vous sera remboursée après chaque visite.

### IDENTIFICATION DES PERSONNES-RESSOURCES

Si vous avez des questions ou éprouvez des problèmes en lien avec le projet de recherche, ou si vous souhaitez vous en retirer, vous pouvez communiquer en tout temps avec le chercheur responsable ou un membre de l'équipe de recherche aux numéros suivants :

#### Centre ÉPIC de l'Institut de cardiologie de Montréal

Daniel Gagnon, PhD, Chercheur responsable : Tél. : (514) 376-3330 (poste 4205)  
Équipe de recherche : Tél. : (514) 376-3330 (poste 4259)

Pour toute question concernant vos droits en tant que participant à ce projet de recherche ou si vous avez des plaintes ou des commentaires à formuler, vous pouvez communiquer avec le Commissaire local aux plaintes et à la qualité des services de l'Institut de Cardiologie de Montréal au numéro suivant : (514) 376-3330 poste 3398.



## FORMULAIRE DE CONSENTEMENT

**PROJET DE RECHERCHE : ICM #2017-2179**

Les effets aigus d'un bain sauna sur la fonction vasculaire.

**Sauna et FMD**

**Investigateur principal et collaborateurs**  
**Daniel Gagnon (PhD)**, Michel White (MD), Martin Juneau (MD), Anil Nigam (MD),  
 Christine Henri (MD), Lukas Trachsel (MD), Mathieu Gayda (PhD), Julie Lalongé (A.R.),  
 Martin Sirois (PhD), Hugo Gravel (PhD), Hadiatou Barry (BSc), Parya Yousefi Behzadi (MSc)

**Organisme subventionnaire**  
 Fonds de Recherche du Québec - Santé

J'ai pris connaissance du formulaire d'information et de consentement. On m'a expliqué le projet de recherche et le présent formulaire d'information et de consentement. On a répondu à mes questions et on m'a laissé le temps voulu pour prendre une décision. Après réflexion, je consens à participer à ce projet de recherche aux conditions qui y sont énoncées.

J'autorise l'équipe de recherche à avoir accès à mon dossier médical.

J'autorise le chercheur responsable de la présente recherche à communiquer avec moi afin de me demander si je suis intéressé(e) à participer à d'autres recherches.	<input type="checkbox"/> J'accepte	<input type="checkbox"/> Je refuse
---	------------------------------------	------------------------------------

---

**Nom du participant** **Signature** **Date (jj-mm-aaaa)**

J'ai expliqué au participant le projet de recherche et le présent formulaire d'information et de consentement et j'ai répondu aux questions qu'il m'a posées.

---

**Nom de la personne qui obtient le consentement** **Signature** **Date (jj-mm-aaaa)**

Je m'engage, avec l'équipe de recherche, à respecter ce qui a été convenu au formulaire d'information et de consentement et à en remettre une copie signée et datée au participant.

---

<i>Nom du chercheur responsable</i>	<i>Signature</i>	<i>Date (jj-mm-aaaa)</i>
-------------------------------------	------------------	--------------------------

Le Comité d'éthique de la recherche et du développement des nouvelles technologies de l'Institut de Cardiologie de Montréal a approuvé le projet et en assurera le suivi.

Le début du recrutement a été autorisé le 27 avril 2017. La version courante no. 3 du consentement en français datée du 22 mars 2018 est approuvée.

**N.B. :** Une copie signée et datée du présent formulaire d'information et de consentement sera déposée au dossier du participant, une copie gardée par l'investigateur et une copie remise au participant.