

UNIVERSITÉ TOULOUSE III – PAUL SABATIER

FACULTÉ DE MEDECINE DE TOULOUSE

Année 2014

2014 TOU3 1146

---

**THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE  
SPÉCIALITÉ MÉDECINE GÉNÉRALE**

PRESENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE : 16 DÉCEMBRE 2014

PAR Mr Nicolas ROUSSEL

Né le 18/12/1986

**EFFET DE L'OXYGÉNOTHÉRAPIE HYPERBARE  
SUR LES FONCTIONS PLAQUETTAIRES**

ESSAI CLINIQUE SUR DES SUJETS SAINS EXPOSÉS À UNE SÉANCE D'OHB  
ASSOCIÉE À L'ÉTUDE DES FONCTIONS PLAQUETTAIRES

Directeur de Thèse : Docteur Jean-Michel PONTIER

Jury :

*Présidente* : Madame le Professeur Michèle GÉNESTAL

*Assesseur* : Monsieur le Professeur Bernard PAYRASTRE

*Assesseur* : Madame le Professeur Sandrine CHARPENTIER

*Assesseur* : Madame le Docteur Brigitte ESCOURROU

*Assesseur* : Monsieur le Docteur Jean Michel PONTIER

UNIVERSITÉ TOULOUSE III – PAUL SABATIER

FACULTÉ DE MEDECINE DE TOULOUSE

Année 2014

2014 TOU3 1146

---

**THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE  
SPÉCIALITÉ MÉDECINE GÉNÉRALE**

PRESENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE : 16 DÉCEMBRE 2014

PAR Mr Nicolas ROUSSEL

Né le 18/12/1986

**EFFET DE L'OXYGÉNOTHÉRAPIE HYPERBARE  
SUR LES FONCTIONS PLAQUETTAIRES**

ESSAI CLINIQUE SUR DES SUJETS SAINS EXPOSÉS À UNE SÉANCE D'OHB  
ASSOCIÉE À L'ÉTUDE DES FONCTIONS PLAQUETTAIRES

Directeur de Thèse : Docteur Jean-Michel PONTIER

Jury :

*Présidente* : Madame le Professeur Michèle GÉNESTAL

*Assesseur* : Monsieur le Professeur Bernard PAYRASTRE

*Assesseur* : Madame le Professeur Sandrine CHARPENTIER

*Assesseur* : Madame le Docteur Brigitte ESCOURROU

*Assesseur* : Monsieur le Docteur Jean Michel PONTIER

**HONORARIAT DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE**

**DÉDICACES AUX MEMBRES DU JURY**

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude au Dr Pontier Jean-Michel, mon directeur de thèse, en premier lieu pour avoir cru en mon projet.*

*Je remercie également le Pr Génestal Michèle pour m'avoir accompagné dans sa réalisation, ainsi que pour ses cours du D.I.U.*

*En outre, je remercie chaleureusement le Dr Escourrou Brigitte, le Dr Charpentier Sandrine et le Pr Payrastra Bernard d'avoir bien voulu accepter d'être membres de mon jury.*

## TABLES DES MATIÈRES

1. <u>INTRODUCTION</u>	5
2. <u>MATERIEL ET MÉTHODES</u>	11
2.1. <u>Descriptif de l'étude</u>	12
2.2. <u>CPP et comité d'éthique</u>	13
2.3. <u>Population étudiée</u>	13
2.4. <u>Critères d'inclusion</u>	13
2.5. <u>Critères d'exclusion</u>	14
2.6. <u>Matériel</u>	14
2.6.1. <u>Caisson hyperbare</u>	14
2.6.2. <u>Méthode de prélèvement</u>	14
2.6.3. <u>Agrégomètre</u>	15
2.6.4. <u>Temps d'occlusion plaquettaire</u>	15
2.6.5. <u>Dosage des microparticules</u>	16
2.7. <u>Protocole</u>	16
2.7.1. <u>Déroulement</u>	16
2.7.2. <u>Recueil des données</u>	16
2.7.3. <u>Procédures</u>	17
2.7.4. <u>Risques</u>	18
2.8. <u>Analyse statistique</u>	19
2.9. <u>Critères de jugement principal et secondaire</u>	20

3. <u>RÉSULTATS</u>	21
3.1. <u>Compte plaquettaire</u>	22
3.2. <u>Temps d'occlusion plaquettaire</u>	24
3.3. <u>Agrégométrie</u>	25
3.4. <u>Dosage des microparticules</u>	27
4. <u>DISCUSSION</u>	28
5. <u>CONCLUSION</u>	31
6. <u>BIBLIOGRAPHIE</u>	33
7. <u>ANNEXES</u>	37
7.1. <u>Annexe n°1 : Enregistrement ANSM</u>	38
7.2. <u>Annexe n°2 : Enregistrement CNIL</u>	39
7.3. <u>Annexe n°3 : Contre-indications à la plongée en scaphandre</u>	40

### **Table des matières des figures :**

- Figure 1 : Relation entre la diminution du nombre de plaquettes et l'importance du phénomène bullaire ----- 7
- Figure 2 : Relation entre la sévérité de l'ADD et l'agrégation plaquettaire ----- 8

### **Table des matières des tableaux :**

- Tableau 1 : Analyse de la Numération Formule Sanguine ----- 22
- Tableau 2 : Analyse du temps d'occlusion plaquettaire ----- 24
- Tableau 3 : Analyse de l'agrégation plaquettaire ----- 26
- Tableau 4 : Analyse des microparticules ----- 27



## **ABREVIATIONS :**

- ATA : Atmosphère Technique Absolue
- ADD : Accident De Décompression
- ADP : Adénosine Di Phosphate
- EP : Embolie Pulmonaire
- OHB : Oxygénothérapie HyperBare
- PPP : Plasma pauvre en plaquette
- PRP : Plasma riche en plaquettes
- TEK : Plongée technique
- TOP : Temps d'occlusion plaquettaire
- TVP : Thrombose veineuse profonde
- TXA : Thromboxane A
- MP : Micro Particules

# **1. INTRODUCTION**

## 1. Introduction

Les dernières données épidémiologiques font état de 400 accidents de décompression (ADD) par an en France [1], selon la Fédération Française d'Etude et du Sport Sous-Marin on observe 1 ADD pour 5000 plongées en plongée loisir, 1 ADD pour 30 000 en plongée militaire.

Ces dernières années furent importantes vis à vis de la compréhension du mécanisme physiopathologique des ADD [2] [3] avec d'une part :

- Le phénomène bullaire initial conduisant à des événements pro-thrombotique local, régional et à distance. [4]
- D'autre part l'accident bullaire initial, véritable état thrombotique par interaction entre :
  - Les bulles et le plasma responsable d'une activation du système de contact. [5] [6]. A l'interface gaz-bulle se produit un réarrangement des macromolécules entraînant une modification de l'équilibre des charges électriques, avec création d'une couche électronégative capable d'activer le système de contact : le facteur XII (facteur de Hagemann) s'adsorbe sur cette surface et active du facteur XI, du facteur VII (première étape de la coagulation), du plasminogène (précurseur de la plasmine, enzyme centrale de la fibrinolyse) et du système du complément. Des élévations de la concentration des fractions C3a, C4a et C5a ont été mesurées après bullage *in vitro* dans du sang complet et retrouvées *in vivo*. L'activation de ce système pré-coagulant rend disponible le facteurs VIIa qui, en présence de facteur tissulaire (normalement non exprimé à la surface vasculaire de l'endothélium), conduit à la fibrinofomation.
  - Les bulles et les plaquettes responsables d'une activation des plaquettes avec augmentation du PF4, sécrétion d'ADP et de TXA2. [7] [8]. Des variations du taux de plaquettes circulantes ont été rapportées dès 1969 dans les phénomènes de décompression. L'activation débute lorsque la plaquette entre en contact avec la matrice sous-endothéliale (vWF essentiellement), ou avec des activateurs solubles. Les glycoprotéines transmembranaires GPIIb-IIIa se lient au fibrinogène, permettant aux plaquettes d'agréger entre elles. Parallèlement,

s'installe une activité pro-coagulante liée à l'expression du facteur tissulaire à la surface de la membrane. La dégranulation des granules denses libère de l'ADP. Ainsi se trouve constitué un système d'amplification et de transmission du message d'activation aux autres plaquettes. Un changement de conformation des phospholipides membranaires entraîne une grande affinité pour les facteurs vitamine K-dépendants de la coagulation responsable de l'activation du facteur X, et la conversion de prothrombine en thrombine (qui active d'autres plaquettes) favorise la polymérisation de la fibrine et stimule la production de NO et de PGI.

- Les bulles et l'endothélium vasculaire responsable d'une agrégation plaquettaire avec génération de thrombine. [9] [10] [11]. Les bulles ont un effet abrasif sur l'endothélium, mettant à nu le collagène de la lame basale, dont les protéines (laminines, fibronectines, collagènes, facteur de von Willebrand) sont reconnues par des intégrines plaquettaires (glycoprotéines), entraînant l'adhésion des plaquettes au sous-endothélium et leur activation. Ce phénomène engendre également une activation des cellules endothéliales devenant alors thrombogènes.

Cet ensemble de réactions aboutissant à une thrombopénie de consommation en relation directe avec l'importance du phénomène bullaire et la sévérité de l'ADD.

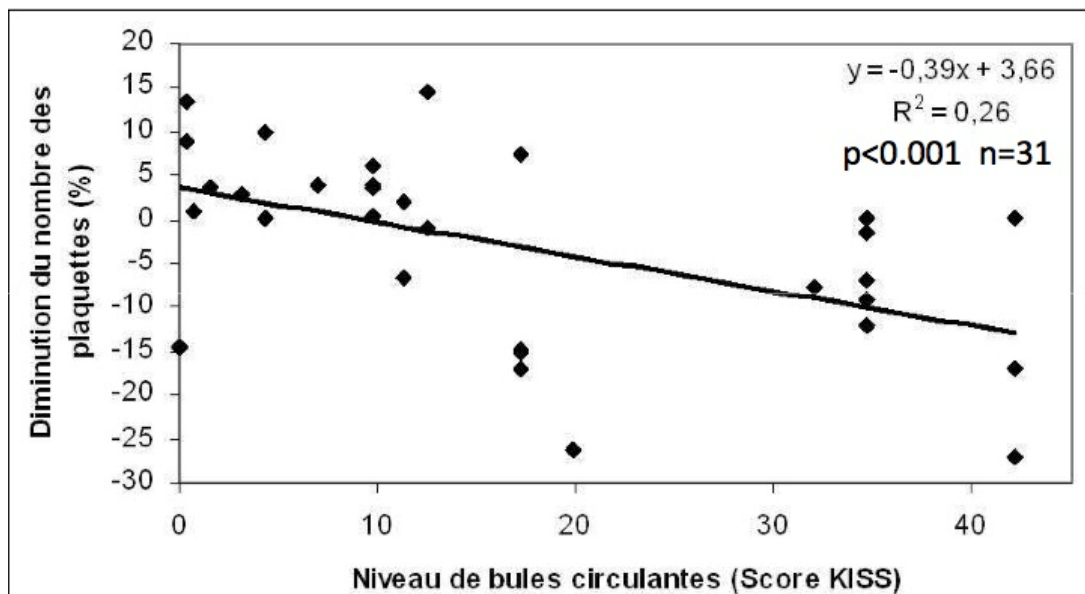


Figure 1 - Relation entre la diminution du nombre de plaquettes et l'importance du phénomène bullaire [12]

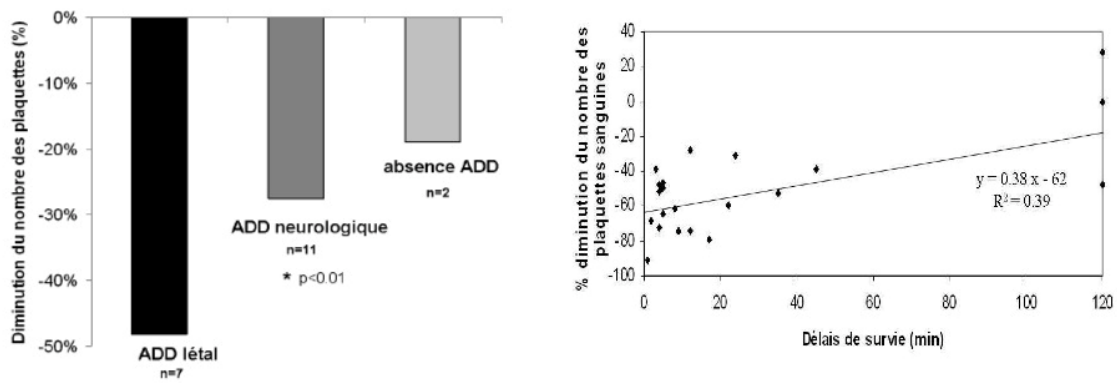


Figure 2 - Relation entre sévérité de l'ADD et l'agrégation plaquettaire [13]

On sait que cette agrégation relève d'un mécanisme en trois étapes (adhésion, activation, agrégation) aboutissant à la formation de thrombi bullo-plaquettaires :

- L'adhésion étant induite par l'interaction bulles / plaquettes.
- L'activation, faisant suite à l'adhésion, avec synthèse d'ADP, expression des glycoprotéines IIb-IIIa et la sécrétion de TXA2.
- L'agrégation par liaison du fibrinogène circulant au GPIIb-IIIa.

Si l'importance du phénomène bullaire lors de la décompression est étroitement liée à une augmentation du risque de survenue d'une telle pathologie, les éléments figurés du sang et plus particulièrement les plaquettes sanguines gardent une place non négligeable dans la pathogénie de ce type d'accident de plongée.

Le traitement des accidents de décompression constitue une urgence médicale associant l'inhalation d'oxygène dès l'apparition des premiers signes, une recompression thérapeutique en enceinte hyperbare et l'administration d'un traitement médicamenteux. La précocité du délai d'administration de ce traitement conditionne le pronostic évolutif de la pathologie. En effet, la prise en charge initiale sur les lieux même de la plongée est essentielle mais la médicalisation précoce ne doit pas retarder l'évacuation vers un centre hyperbare hospitalier. Les différentes modalités du traitement visent à combattre ou à limiter les conséquences du phénomène bullaire, c'est-à-dire de l'hypoxie tissulaire engendrée par l'interruption de la circulation artérielle ou veineuse, ainsi que les phénomènes cytotoxiques de la maladie de décompression. Les plaquettes sanguines, véritables effecteurs de l'économie humaine, vont ainsi participer à l'entretien,

l'aggravation et la complication de la pathologie et justifient par conséquent la validation d'un traitement anti-thrombotique efficace délivré lors d'une prise en charge médicale.

Les essais réalisés sur différentes molécules ne montrent pas pour le moment d'application concrète quant à la diminution des fonctions plaquettaires dans les ADD, à savoir:

- Les antiagrégants :
  - L'aspirine (Kardegic<sup>o</sup>), qui agit par inhibition de la production de TXA2 en inhibant la Cox, ne montre pas de réduction du risque. [14]
  - Le clopidogrel (Plavix<sup>o</sup>) dont le mécanisme d'action est l'inhibition de la fixation de l'ADP, montre des résultats encourageants chez le rat, cependant aucune étude n'a été réalisée chez l'homme. [15]
  - Le ticagrelor (Brilique<sup>o</sup>), antagoniste sélectif réversible de récepteur plaquettaire P2Y12, pas d'étude publiée à ce jour.
  - Le prasugrel (Effient<sup>o</sup>), analogue du clopidogrel mais dont le métabolisme dépend peu du cytochrome P2C19, pas d'étude publiée à ce jour.
  - Les anti-GPIIb/IIIa type abciximab (Réopro<sup>o</sup>) et eptifibatide (Integrelin<sup>o</sup>) montrent une baisse significative du risque de survenue d'ADD mais l'inégalité de la balance bénéfices – risques ne permet pas sa mise en application pratique.
  
- Les anticoagulants :
  - Les Héparines Non Fractionnées (Calciparine<sup>o</sup>), cofacteurs de l'anti-thrombine sont inhibitrices des facteurs Iia, VIIa, IXa, Xa, ne montrent pas d'efficacité. [16]
  - Les Héparines de Bas Poids Moléculaire (Lovenox<sup>o</sup>) de même mécanisme d'action mais avec une activité anti-Xa prépondérante à l'activité anti-IIa ne sont pas plus efficaces. [17]
  - Les Anti-Vitamine K (Coumadine<sup>o</sup>, Previscan<sup>o</sup>) qui inhibent la synthèse hépatique des facteurs de la coagulation vitamine K dépendant (facteur II, V, VII, IX ; protéine C et S) ne montrent pas d'intérêt en pratique du fait du mécanisme d'action. [18] [19]

- Autres :
  - Nouveaux anticoagulants oraux type dabigatran (Pradaxa<sup>o</sup>) inhibiteur direct de la thrombine et rivaroxaban (Xarelto<sup>o</sup>) inhibiteur du facteur anti-Xa, aucune étude publiée ce jour.
  - Fondaparinux (Arixtra<sup>o</sup>) activité exclusive anti-Xa, pas d'étude publiée ce jour.
  - Bivalirudine (Angiox<sup>o</sup>), inhibiteur direct de la thrombine, pas d'étude publiée ce jour.
  - Héparinoïdes de synthèse type danaparoïde (Orgaran<sup>o</sup>), pas d'étude publiée ce jour.
  - Lidocaïne, elle montre une efficacité dans la prise en charge des ADD mais pas en préventif. [20]
  - Sildenafil, inhibiteur de la 5-phosphodiesterase, réduit la sévérité des ADD neurologique. [21]
  - Corticoïdes

Différentes études se sont penchées sur l'action de l'Oxygénothérapie Hyperbare (OHB) sur l'agrégation plaquettaire avec des résultats parfois encourageants montrant une diminution de l'activation des plaquettes [22], parfois discordants [23] [24], mais les protocoles utilisés sont très variables.

Parmi ces études, une montre une diminution de l'agrégabilité plaquettaire par diminution de l'ADP et du collagène chez le lapin après exposition à une séance d'OHB à 2,4 ATA pendant 90 minutes, effet qui disparaît après 20 séances [25].

L'intérêt de notre étude est de vérifier si une exposition aiguë à une séance d'OHB chez l'humain induit une diminution de l'agrégation plaquettaire et permettre ainsi de pouvoir effectuer d'autres études pour voir si l'OHB peut être proposée en prévention primaire des ADD avec une application plutôt orientée vers les plongeurs professionnels : militaires, TEK et offshores ; mais également dans la prise en charge des affections thrombotiques : TVP, EP, infarctus du myocarde, etc.

## **2. MATERIEL & METHODE**



## **2. Matériel & Méthodes**

### **2.1. Descriptif de l'étude**

Cette recherche biomédicale est un essai clinique comparatif en cross-over sur une série de 4 groupes de patients, chaque patient étant son propre témoin, elle est unicentrique, analytique. Elle inclue une visite de contrôle pour l'inclusion des patients selon des critères prédéfinis ainsi qu'un examen médical standard avant et après une séance d'hyperbarie de 30 minutes à 2,5 ATA à 100% d'oxygène.

Les biais sont de ce fait minimisés du fait que chaque patient est son propre témoin. Les patients ont été randomisés dans 4 groupes différents : l'un pour l'analyse du compte plaquettaire, l'un pour les tests d'agrégation, l'un pour la mesure du temps d'occlusion plaquettaire par PFA100 et le dernier pour l'étude des microparticules. Les patients ne sachant pas à quel test ils allaient être soumis. L'analyse des résultats fût soumise à un opérateur différent dans un lieu différent avec des résultats informatisés, les différents échantillons sanguins étaient anonymes et disposaient d'une numérotation spécifique.

Deux études principales initient cette recherche : l'une montre une diminution de l'agrégabilité plaquettaire par diminution de l'ADP et du collagène chez le lapin après exposition à une séance d'OHB à 2,4 ATA pendant 90 minutes, effet qui disparaît après 20 séances [25]. La seconde met en évidence une diminution de l'activation plaquettaire chez l'homme après des séances d'OHB [22].

Cette étude n'apporte aucun bénéfice individuel direct pour les patients se prêtant à cette expérience. Les effets secondaires de l'OHB, après exclusion des patients ayant une contre indication sont minimales : barotraumatisme (oreille, sinus), claustrophobie, et pour les longues expositions toxicité de l'oxygène avec crise convulsive.

Les risques encourus par le patient sont restreints comme le montre la conclusion du rapport HAS de Janvier 2007 sur les effets indésirables de l'OHB : « L'analyse de la littérature ne recense pas de complication sévère liée à l'OHB. Les complications les plus fréquentes sont la claustrophobie (incidence 14,3%) et le barotraumatisme de l'oreille moyenne (incidence de 2 à 6,6 %). Si la séance dure moins de 120 minutes, l'OHB n'induit pas de complication [26]. »

## **2.2. CPP et comité d'éthique**

L'étude est enregistrée auprès de l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM) pour la Recherche et Collection Biologique sous le n° **2013-A00807-38** (cf. annexe n°1)

Elle est également enregistrée auprès de l'EudraCT sous le n°**2013-002448-10** et du CNIL : **1676218** (cf. annexe n°2)

La participation des sujets se prêtant à cette étude se fait sur la base du volontariat après information libre et éclairée des objectifs de l'étude, des risques éventuels et des résultats escomptés. Le recueil du consentement est effectué sur un formulaire dédié.

L'étude est réalisée après avis du Comité de Protection des Personnes et du comité d'éthique.

## **2.3. Population étudiée**

Cette étude étudie une population de plongeurs militaires professionnels entraînés pouvant être considérés comme sains.

## **2.4. Critères d'inclusion**

L'étude porta sur des volontaires sains, majeurs, de tous sexe, exerçant la plongée à un niveau professionnel, ayant entre 18 et 50 ans, ne présentant aucune contre-indication formelle ou relative à une séance d'hyperbarie, sans comorbidité associée, n'ayant pris aucun traitement médicamenteux dans les 21 jours précédant l'étude.

Pour pouvoir participer à cette recherche, tout sujet doit être affilié à la Sécurité Sociale.

Les sujets participant à l'étude seront inscrits au fichier national des personnes qui se prêtent à des recherches sans bénéfice individuel direct par le médecin investigateur.

La totalité des séances se dérouleront sous la responsabilité de l'hôpital Sainte-Anne à Toulon.

Tous les plongeurs sélectionnés auront effectué des plongées équivalentes au profil de la séance proposée, à savoir 2,5 ATA pendant 30 minutes, au minimum des dizaines de fois sans jamais avoir présenté le moindre incident.

## **2.5. Critères d'exclusion**

Les critères d'exclusions reprenaient les contre-indications classiques de l'OHB, celles de la plongée bouteille ainsi qu'une prise médicamenteuse dans les 21 précédant l'étude, une plongée enregistrée dans les 72 heures précédentes, une activité physique le jour même de l'étude, la consommation de tabac dans les 2 heures précédant la séance.

L'OHB est contre-indiquée de manière absolue dans l'épilepsie mal équilibrée, le pneumothorax non drainé, l'emphysème majeur, la cardiopathie ischémique non stabilisée, l'otite aiguë. □ Les contre-indications relatives sont : l'asthme non contrôlé, la grossesse, le kyste osseux, l'emphysème modéré.

La plongée en scaphandre est contre-indiquée dans les cas suivants (cf. annexe n°3), excluant ainsi le patient de l'étude

## **2.6. Matériel**

### **2.6.1. Caisson hyperbare**

Caisson 6 places, situé à l'école de plongée de la Marine Nationale à Saint Mandrier Sur Mer avec une équipe médicale et paramédicale formée à l'hyperbarie.

### **2.6.2. Méthode de prélèvement, NFS**

Un prélèvement sanguin veineux sera réalisé avant et après les sessions expérimentales.

Ce prélèvement sera effectué par un médecin expérimenté selon les règles en vigueur dans les locaux de l'infirmerie de l'école de plongée de la marine nationale : pas de pose de garrot, prélèvement de sang veineux au pli du coude à l'aide d'une aiguille de gauge 21 soit dans un tube EDTA soit dans un tube citraté à 3,8% de 4ml.

Pour l'analyse NFS et agrégométrie 3 tubes de 4 ml seront prélevés à chaque ponction veineuse, soit 6 tubes pour chaque journée expérimentale (24 ml), soit un volume de 72 ml

de sang pour chaque plongeur durant la journée de l'étude. Un tube est destiné à la mesure de la NFS, les deux autres tubes serviront à l'agrégométrie.

Pour l'analyse du TOP un tube citraté sera prélevé avant et après exposition, pour les tests des microparticules, un seul tube EDTA est nécessaire avant et après la séance ;

La conservation et l'acheminement des tubes se déroulent selon les normes en vigueur.

### 2.6.3. Agrégomètre

Le test d'agrégation plaquettaire (agrégométrie) consiste à évaluer la formation d'agrégats plaquettaires in vitro après activation des plaquettes par des agonistes variés.

Ce test est effectué classiquement sur du plasma riche en plaquettes (PRP), issu de la centrifugation à faible vitesse du sang prélevé dans un tube contenant un anticoagulant adapté (citrate). L'agrégation plaquettaire est mesurée par une technique photométrique sur un agrégomètre puis traitée par un logiciel dédié. Le résultat est exprimé en pourcentage de plaquettes agrégées en fonction du temps, ce qui sera notre critère principal.

Pour ce faire, nous réalisons la centrifugation des échantillons sanguins à 190G pendant 10 minutes avec récupération du Plasma Riche en Plaquette (PRP) que nous re-centrifugeons à 250G pendant 10 minutes avec récupération du Plasma Pauvre en Plaquette (PPP) pour calibrage de l'agrégomètre.

Nous déposons dans une éprouvette siliconée, 270µl de PRP puis nous ajoutons 30µl de réactif pro-agrégant pour catalyser l'agrégation des plaquettes. Nous réalisons cette étape avec les réactifs suivants : ristrocétine 1,5 – TRAP 6,25 – TRAP 12,5 – epinéphrine – collagène – ADP 2,5 – ADP 5 – ADP 10 - acide arachidonique.

Les résultats sont analysés par un logiciel spécifique.

### 2.6.4. Temps d'occlusion plaquettaire

Appareil de la gamme Siemens<sup>o</sup> Healthcare qui analyse un échantillon sanguin total non traité et mesure le Temps d'Occlusion Plaquettaire (TOP) dont la norme se situe entre 68 et 121 secondes. Le réactif utilisé pour enclencher l'agrégation plaquettaire est une cartouche d'ADP/collagène. Ce test est un équivalent de la mesure du temps de saignement.

### 2.6.5. Dosage des microparticules

Elles ont été observées la première fois dans le sang en 1967 par P. Wolff qui utilisa le terme de « poussière de plaquette ».

P.S. Sims & S.J Shatill montrent dans les années 1990 la génération de microparticules durant l'activation plaquettaire. Ces MP plaquettaires sont pro-coagulantes, elle lient le facteur Va et soutiennent l'activité prothrombinase ainsi que la liaison du facteur VIII.

La plupart de ces microparticules sont issues des plaquettes, mais un certain nombre provient des différents éléments : leucocytes, cellules endothéliales,...

Leur dosage se fait par cytométrie de flux.

Les MP exposent à leur surface la phosphatidylsérine et le facteur tissulaire qui initient la cascade de coagulation [29].

## **2.7. Protocole**

### 2.7.1. Déroulement

Réalisation dans le caisson hyperbare de Toulon de 4 sessions différentes, une séance se déroulant sur une journée avec comme variable commune la pression de 2,5 ATA pendant 30 minutes dans le même caisson avec oxygène pur.

- 1-Etude de la numération plaquettaire
- 2-Etude de l'agrégation plaquettaire
- 3-Etude du temps d'occlusion plaquettaire
- 4-Etude des microparticules

Nous réalisons un prélèvement sanguin directement avant et après chaque séance.

### 2.7.2. Recueil des données

Chaque séance était précédée d'un entretien avec le patient à la recherche d'un critère d'exclusion.

Les informations relevées de façon anonyme et informatiquée dans un tableau comportent la biométrie du patient ainsi que la variable étudiée avant et après chaque exposition.

### 2.7.3. Procédures

Tout patient peut sur demande auprès de l'investigateur stopper sa participation à l'étude sans en préciser le motif.

De plus, toute constatation médicale d'un effet secondaire de l'OHB, d'une pathologie diverse au cours de l'étude ou tout changement vis à vis des critères d'exclusion exclue définitivement le patient de la recherche.

Une levée d'insu est prévue en cas de constatation fortuite d'un trouble de la coagulation chez un patient.

L'arrêt de l'étude peut survenir à l'issue de la constatation médicale d'un effet secondaire majeur d'une séance d'OHB :

- Accident de décompression de type 2,
- Barotraumatisme pulmonaire.

Afin de détecter l'apparition de toute manifestation pathologique, les sujets feront l'objet d'une surveillance médicale permanente placée sous la responsabilité du médecin investigateur. Il pourra à tout instant interrompre l'étude s'il juge qu'un risque particulier pour la santé ou la sécurité des sujets vient d'apparaître.

Enfin, l'infirmier de l'école de plongée est active en journée et est capable de prendre en charge sur le plan thérapeutique un accident de désaturation.

## 2.7.4. Risques

### 2.7.4.1. Liés au caisson

#### 2.7.4.1.1. Accidents de désaturation

Le risque d'accident est très faible en raison de la maîtrise de la décompression. Les séances seront peu saturantes compte tenu de la profondeur (2,5 ATA) et de la durée retenues (30 min). Ces séances concernent une population de plongeurs médicalement aptes et entraînés.

#### 2.7.4.1.2. Barotraumatismes

Le risque n'est pas supérieur à celui d'une plongée sportive de loisir réalisée en club. Par ailleurs, il s'agit de sujets sélectionnés, aptes médicalement.

Les séances réalisées s'inscrivent strictement dans le cadre admis aussi bien par la FFESSM que par la Marine Nationale, c'est-à-dire qu'elles sont réputées ne pas provoquer d'accidents de plongée. Tous les plongeurs sélectionnés auront effectué des plongées équivalentes au profil de la séance proposée au minimum des dizaines de fois sans jamais avoir présenté le moindre incident.

### 2.7.4.2. Liés aux prélèvements

Les prélèvements seront réalisés selon les procédures habituelles et avec du matériel à usage unique (type Vacutainer®) ; les risques sont donc limités à l'hématome au point de ponction. Une compression suffisante sera donc maintenue aussi longtemps que nécessaire après la ponction. L'emploi d'aiguilles fines, associé avec du matériel à réserve de vide, permet de limiter la douleur au minimum. Enfin, la spoliation sanguine liée aux prélèvements est inexistante, puisqu'au total ceux-ci ne représentent qu'un volume maximal de 24 ml par sujet pour une journée expérimentale et de 72 ml pour la totalité de l'expérimentation.

## 2.8. Analyse statistique

Chaque partie correspond à une population étudiée différente. La logique de l'analyse est cependant toujours la même, visant à comparer certains critères (numération, temps d'occlusion plaquettaire, dosages liés à certains réactifs...) avant et après la thérapie hyperbare.

Pour les variables qualitatives : elles sont décrites en terme d'effectif et de pourcentage ici il n'y avait pas lieu de faire des tests de comparaison.

Pour les variables quantitatives : les résultats sont exprimés à l'aide de moyennes avec leur intervalle de confiance à 95 % (IC<sub>95%</sub>) dans le cas où la distribution de la variable était gaussienne. Le test de comparaison de moyennes utilisé est le test de Fisher en cas d'égalité des variances, sinon on usait du test de Welsh.

En cas de distribution non paramétrique, nous avons donné médiane et intervalle interquartile [IIQ]. Le test associé est le test de Wilcoxon, ici appliqué sur des groupes appariés, puisque c'est la même population qui est étudiée avant et après l'expérience. Cela confère aux tests une plus grande puissance statistique.

L'applicabilité de ces tests est limitée par les cas d'égalité entre les populations comparées, mais il n'existe pas à notre connaissance de moyen simple de s'en affranchir ici.

S'agissant de la significativité des différences observées, nous avons posé un seuil de première espèce  $\alpha$  à 0.05, avec la convention d'écriture suivante

- NS :  $p > 0.2$ , non significatif
- INT :  $p \in ]0.05 ; 0.2]$  : valeurs de  $p$  intermédiaires, on peut éventuellement discuter de « tendances »
- \* :  $p \in ]0.01 ; 0.05]$
- \*\* :  $p \in ]0.001 ; 0.001]$
- \*\*\* :  $p \leq 0.001$



## **2.9. Critères de jugement principal et secondaire**

La recherche se concentre sur l'agrégation des plaquettes in vitro, en partant des études réalisées chez l'animal. Cette expérience a pour but de montrer si l'oxygénothérapie hyperbare induit une variation des fonctions des plaquettes dans le sens d'une hypoagrégabilité. Cet élément représente le critère de jugement principal de l'étude, via les tests d'agrégométrie qui expriment le pourcentage du nombre de plaquettes ayant coagulé en fonction du temps sous l'effet d'un agent pro-agrégant.

Les paramètres secondaires recherchés se basent sur les autres axes d'exploration de la plaquette :

- Numération plaquettaire,
- Temps d'occlusion plaquettaire, équivalent standardisé du temps de saignement permettant ainsi d'explorer l'hémostase primaire,
- Dosage des microparticules par cytométrie de flux.

## **3. RÉSULTATS**

### 3. Résultats

#### 3.1. Compte plaquettaire

La distribution est non normale, que ce soit avant ou après la THB. L'étude est donc basée sur des tests non paramétriques, on s'intéressera à la médiane et à l'intervalle interquartile (IIQ).

Population totale N = 11	Avant THB		Après THB		p
	Médiane	IIQ	Médiane	IIQ	
<b>PRP en G/l (n = 11)</b>	436	<b>[381 ; 479]</b>	397	<b>[310 ; 446]</b>	<b>0.0067**</b>
<b>Leucocytes GB (n = 8)</b>	6.69	<b>[5.76 ; 9.03]</b>	6.15	<b>[5.58 ; 7.87]</b>	<b>0.039*</b>
<b>GR (G/l) (n = 8)</b>	4.85	<b>[4.55 ; 5.01]</b>	4.81	<b>[4.65 ; 4.9]</b>	<b>0.38</b>
<b>Hb en g/dl (n = 8)</b>	14.65	<b>[14.2 ; 15.2]</b>	14.5	<b>[14.2 ; 14.7]</b>	<b>0.042*</b>
<b>Hématies en % (n = 8)</b>	42.9	<b>[42.0 ; 43.5]</b>	41.95	<b>[41.6 ; 43.3]</b>	<b>0.042*</b>
<b>PLT en G/l (n = 8)</b>	203.5	<b>[189 ; 265]</b>	186	<b>[179 ; 249]</b>	<b>0.014*</b>

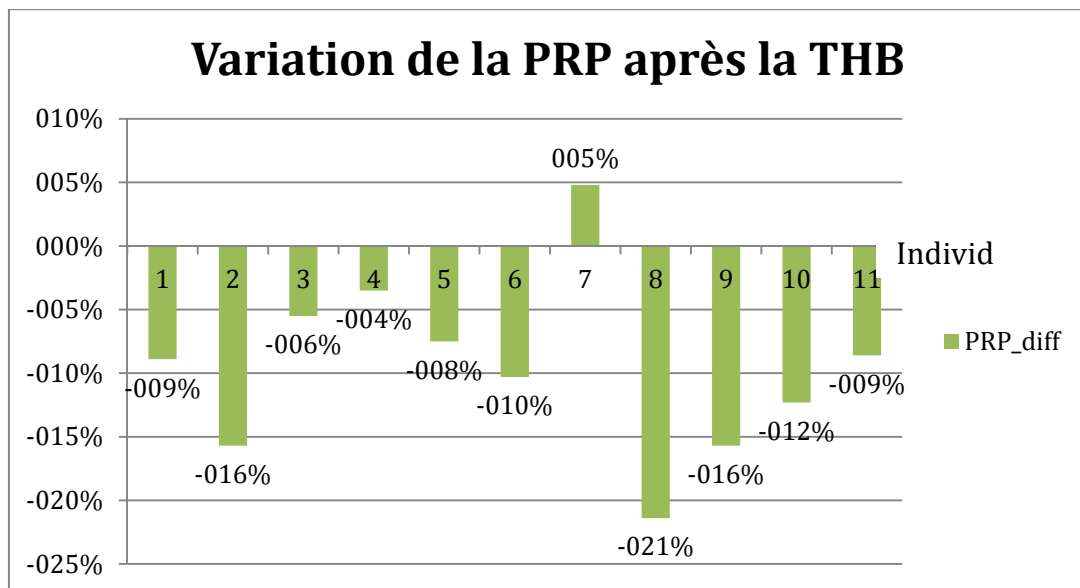
*Tableau 1 : Analyse de la Numération Formule Sanguine*

Une exposition hyperbarique à 2,5ATA en oxygène pur réduit de façon significative la numération leucocytaire et plaquettaire aussi bien sur les plaquettes totales que sur le Plasma Riche en Plaquette.

Cette exposition entraîne donc une consommation plaquettaire ne pouvant pas être expliquée par les phénomènes bullaires qui sont absents dans ce type de plongée. Les principales hypothèses concernant cette diminution semblent être :

- Une formation de micro-agrégat plaquettaire ?
- Une destruction des plaquettes induite par le stress oxydatif ?
- Séquestration splénique ?
- Activation plaquettaire ?

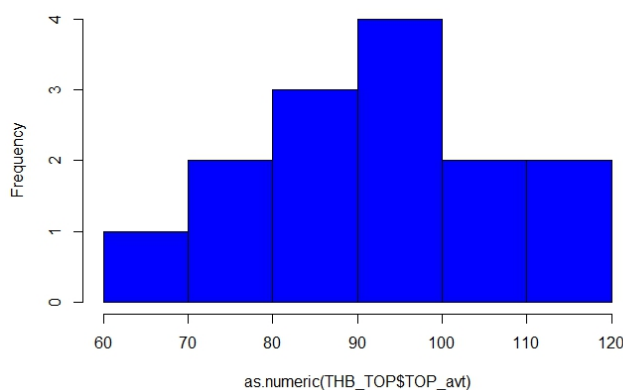
On observe des différences relativement faibles, sur de petits effectifs. Pourtant, il est fréquent que les valeurs critiques soient basses, et les différences significatives. Cela est dû au fait que les séries sont appariées (avant / après thérapie hyperbare). Par exemple, le test effectué ici pour le PRP est significatif, car presque tous les participants ont vu leur PRP baisser (10 sur 11 participants), ce qui représente une situation peu probable sous l'hypothèse que la THB n'ait pas eu d'influence sur le dosage de la PRP. Cela peut aussi s'illustrer par le graphe ci-après.



La distribution des différences des variables (GR avant – après, par exemple) n'était pas d'avantage normale, et ne permettait donc pas l'utilisation de tests paramétriques classiques.

### 3.2. Temps d'occlusion plaquettaire

L'IMC, l'âge et le TOP ont des distributions considérées comme normales (histogramme ci-dessous), on s'intéressera donc à sa moyenne avec IC<sub>95</sub> % dans l'étude de cette variable quantitative.



Description de la population	(aucune donnée manquante)	
	N = 14	%
<b>SEXE</b>	N = 14	<b>100</b>
<i>femmes</i>	4	28.6
<i>hommes</i>	10	71.4
<b>Tabac = oui</b>	4	28.6
<b>Plongée 15/30m = oui</b>	3	21.4
<b>Prise de paracétamol 48 H plus tôt : 1 patient (les autres n'auraient pris aucun médicament)</b>	1	<b>7.1 %</b>
<b>Sport</b>		
48	1	7.1
50	1	7.1
60	2	14.3
<i>Aucun</i>	10	71.4
	<b>Moyenne</b>	<b>IC<sub>95</sub>%</b>
<b>AGE (en années)</b>	30.57	[25.88 ; 35.27]
<b>IMC (en kg/m<sup>2</sup>)</b>	23.78	[22.23 ; 25.34]

Population totale N = 14	Avant THB		Après THB		p
	Moyenne	IC <sub>95</sub> %	Moyenne	IC <sub>95</sub> %	
<b>TOP</b>	95	<b>[84.5 ; 101.3]</b>	98.5	<b>[86.8 ; 109.8]</b>	<b>0.27</b>

Tableau 2 : Analyse du temps d'occlusion plaquettaire

La différence observée entre la moyenne du temps d'occlusion plaquettaire avant et après THB (95 [84.5 ; 101.3 vs 98.5 [86.8 ; 109.8], p = 0.27 > 0.05), n'est pas statistiquement significative. Soit le test manque de puissance statistique ici (effectif n = 14), soit il n'y a pas de différence.

### 3.3. Agrégométrie

Aucune des variables ne semble avoir une distribution gaussienne, et l'effectif est de toutes façons trop petit dans ce tableau pour appliquer d'autres tests que non paramétriques.

Etude des différents réactifs Population totale n = 9 (1/2)	Avant THB		Après THB		p
	Médiane	IIQ	Médiane	IIQ	
<b>Risto 15</b>					
<i>Vélocité manuelle</i>	134	[125 ; 140]	135	[122 ; 161]	0.95
<i>Vélocité automatique</i>	151	[148 ; 182]	168	[148 ; 177]	0.64
<i>Agrégation maximale</i>	94	[85 ; 95]	93	[92 ; 99]	0.11 <sup>INT</sup>
<b>Trap 6,25</b>					
<i>Vélocité manuelle</i>	34	[23 ; 39]	30	[21 ; 49]	0.65
<i>Vélocité automatique</i>	39	[25 ; 41]	30	[22 ; 49]	0.48
<i>Agrégation maximale</i>	14	[7 ; 16]	12	[6 ; 27]	0.59
<b>Trap 1,25</b>					
<i>Vélocité manuelle</i>	119	[94 ; 141]	108	[93 ; 111]	<b>0.12</b>
<i>Vélocité automatique</i>	124	[108 ; 143]	114	[107 ; 117]	<b>0.20</b>
<i>Agrégation maximale</i>	84	[81 ; 84]	80	[76 ; 85]	<b>0.59</b>
<b>Epinéphrine</b>					
<i>Vélocité manuelle</i>	16.5	[12.75 ; 31.5]	21	[12 ; 46.25]	<b>1</b>
<i>Vélocité automatique</i>	55.5	[44.25 ; 60.25]	55	[43.25 ; 61.5]	<b>0.95</b>
<i>Agrégation maximale</i>	69	[64 ; 81]	75	[51 ; 77]	<b>0.89</b>
<b>Epinéphrine</b>					
<i>Vélocité manuelle</i>	95	[79 ; 109]	87	[74 ; 91.36]	<b>0.086</b>
<i>Vélocité automatique</i>	108	[93 ; 111]	88	[77 ; 99]	<b>0.075</b>
<i>Agrégation maximale</i>	84	[78 ; 86]	82	[78 ; 85]	<b>0.62</b>
<b>Collagène</b>					
<i>Latence</i>	31.5	[27.5 ; 35]	30.5	[24.8 ; 36.8]	<b>0.67</b>
<i>Vélocité manuelle</i>	100.5	[80.3 ; 106.8]	89	[81.25 ; 94.8]	<b>0.94</b>
<i>Vélocité automatique</i>	107	[86.3 ; 125]	95	[91 ; 104.3]	<b>1</b>
<i>Agrégation maximale</i>	77	[75 ; 85]	82	[74 ; 83]	<b>1</b>

Etude des différents réactifs Population totale n = 9 (1/2)	Avant THB		Après THB		p
	Médiane	IIQ	Médiane	IIQ	
<b>ADP 25</b>					
<i>Vélocité manuelle</i>	56.5	[55.3 ; 63.8]	56	[53.5 ; 75]	0.83
<i>Vélocité automatique</i>	56	[53.8 ; 68]	64	[54.5 ; 78]	0.78
<i>Agrégation maximale</i>	25.5	[23.5 ; 62]	28.5	[24.8 ; 64.5]	0.56
<b>ADP 5</b>					
<i>Vélocité manuelle</i>	86	[84.5 ; 96]	80	[72 ; 93]	0.30
<i>Vélocité automatique</i>	88	[85 ; 103.5]	84	[77 ; 102.5]	0.58
<i>Agrégation maximale</i>	77	[69 ; 81]	68	[67 ; 77]	0.34
<b>ADP 10</b>					
<i>Vélocité manuelle</i>	92	[81.8 ; 94.8]	90	[81.3 ; 98.5]	1
<i>Vélocité automatique</i>	93.5	[84.8 ; 99]	97	[83.3 ; 100]	0.64
<i>Agrégation maximale</i>	76.5	[74.8 ; 78.3]	79.5	[71.8 ; 84]	0.67

Tableau 3 : Analyse de l'agrégation plaquettaire

Les différences observées entre la médiane avant et après THB ne sont pas statistiquement significatives. Soit le test manque de puissance statistique, soit il n'y a pas de différence.

### 3.4. Dosage des microparticules

Population totale : N = 15, aucune donnée manquante ici	Avant THB		Après THB		p
	Médiane (min / max)	IIQ	Médiane (min / max)	IIQ	
<b>MP plaquettaires (MP/μl)</b>	652 (51 / 4390)	<b>[349 ; 1417]</b>	320 (41 / 728)	<b>[120 ; 435]</b>	<b>6. 10<sup>-4</sup>***</b>
<b>MP endothéliales (MP/μl)</b>	46 (8 / 158)	<b>[15 ; 55,5]</b>	19 (2 et 48)	<b>[10,5 ; 29,5]</b>	<b>8.10<sup>-3</sup>***</b>
<b>MP érythrocytaires totales (MP/μl)</b>	240 (132 / 2141)	<b>[1801 ; 446]</b>	241 (107 / 546)	<b>[197 ; 311]</b>	0.11
<b>STAR</b>	83,6 (55.1/103.1)	<b>[74,5 ; 95,8]</b>	92 (78.8/100.7)	<b>[81,8 ; 94,8]</b>	0.12
<b>Velocity-MP reagent</b>	20,3 (8.6 et 70.3)	<b>[16,8 ; 24,3]</b>	27,5 (3.3 et 89.1)	<b>[12,5 ; 37,8]</b>	0.33

Tableau 4 : Analyse des microparticules

Cette analyse permet de mettre en avant une diminution franche et significative à la fois des microparticules plaquettaire et endothéliales qui jouent un rôle important dans la coagulation, la formation des thrombus, l'inflammation, et l'angiogenèse .

Les MP plaquettaires, véritable agent pro-agrégant, sont diminué de façon très significative après une séance d'OHB. De même que les MP endothéliale qui jouent un rôle dans les phénomènes inflammatoire.



## **4. DISCUSSION**

#### **4. Discussion**

Les résultats montrent d'une part une diminution significative du compte plaquettaire lors d'une exposition hyperbarique en oxygène pur, cependant les valeurs plaquettaires restent dans la normalité. L'oxygénothérapie hyperbare n'induit donc pas une thrombopénie suffisamment marquée pour avoir une répercussion sur leur fonction d'hémostase.

La médiane étant de 203,5 G/L avant exposition à 186 G/L en post-exposition soit une diminution de 7,5% en moyenne.

Se pose la question du devenir de ces plaquettes. Existe-t'il une majoration de la séquestration splénique, une consommation vasculaire, une lyse par stress oxydatif, une activation plaquettaire ?

On retrouve cette non-action de l'OHB sur les fonctions plaquettaires en analysant le temps d'occlusion plaquettaire et l'agrégation plaquettaire induite par différents agents catalyseurs : il n'existe pas de résultat significatif et l'OHB ne semble pas agir sur ces différents paramètres.

De ce fait, l'OHB n'induit pas d'hypoagrégabilité plaquettaire.

Cependant, on note que ces séances hyperbariques produisent un effet significatif sur les microparticules à la fois plaquettaires et endothéliales.

La baisse de sécrétion des microparticules endothéliales provient probablement de l'effet anti-inflammatoire de l'OHB. Cette effet s'exerce sur les cellules endothéliales en majorant leur action anti-thrombique ou plutôt en inhibant leur fonction pro-thrombique.

La diminution de ces microparticules, bien que significative, ne semble pas être assez forte pour perturber les fonctions des plaquettes.

Il semble judicieux d'envisager d'autres voies d'exploration afin de prévenir ces accidents de décompression :

- L'enseignement et la formation des plongeurs en premier lieu avec une maîtrise totale des tables de décompression.
  
- Réduire le nombre de bulles circulantes
  - Par séances d'OHB [22]
  - Utilisation de plateformes vibrantes

- Activités sportives avant la plongée [27]
- Exploration d'autres agents pharmacologiques :
  - Clopidogrel
  - Ticagrelor
  - Prasugrel
  - Dabigatran
  - Rivaroxaban
- Mener d'autres études avec :
  - Des profils de plongée différents
  - L'exploration d'autres marqueurs plaquettaires

Concernant les biais de l'étude, la population étudiée est une population de plongeurs entraînés, militaires, ayant une exposition régulière à de l'hyperbarie, ce qui peut rendre notre protocole inefficace. On peut supposer que les fonctions plaquettaires varient différemment sur une population n'ayant jamais subit d'OHB.

La population est également non représentative de la population générale car elle comporte plus d'hommes que de femmes et les mécanismes plaquettaires doivent certainement varier selon le sexe du patient.

Enfin, le nombre de sujets étant faible, des différences peuvent exister mais l'étude manque de puissance à ce niveau.

Pour finir, il aurait été préférable d'effectuer tous ces tests dans le même temps chez les mêmes patients plutôt que de diviser l'étude en quatre blocs ce qui aurait favorisé la fiabilité et la reproductibilité des résultats en s'affranchissant de la variabilité interindividuelle.

## **5. CONCLUSION**

## 5. Conclusion

L'étude met en évidence de façon franche une action de la thérapie hyperbare sur la diminution du nombre de plaquettes circulantes ainsi qu'une diminution de la sécrétion des microparticules endothéliales et plaquettaires.

Cette action combinée sur ces différents facteurs devrait entraîner une hypo-agrégation des plaquettes que l'on ne retrouve pas en pratique.

La conclusion la plus logique consiste à penser que la diminution du nombre de plaquettes est insuffisante pour avoir une action efficace, mais que l'OHB a une action indirecte sur les plaquettes via la diminution de la synthèse des microparticules du fait de l'action anti-inflammatoire de l'OHB sur les cellules endothéliales.

Ces deux actions conjointes sont insuffisantes pour perturber les fonctions plaquettaires et avoir réellement une hypoagrégation.

La physiologie plaquettaire est tellement riche et complexe que les modifications induites par l'OHB ne provoquent pas de variation sur ces fonctions selon les paramètres de cette étude.

*Vu la Présidente du Jury |  
le 2 décembre 2014*



Réanimation Polyvalente et Hyperbare, soins continus  
Professeur M. GÉNESTAL  
Hôpital PURPAN  
Place du Dr Baylac - TSA 40031  
31059 TOULOUSE Cedex 9

*Toulouse le 2 décembre 2014*

Vu permis d'imprimer  
Le Doyen de la Faculté  
de Médecine Purpan  
J.P. VINEL



## **6. BIBLIOGRAPHIE**

## **6. BIBLIOGRAPHIE**

- [1] F. Venutolo, « Accidents de plongée subaquatique », *Em Consulte*, 2007.
- [2] Vann, RD, « The Physiological Basis of Decompression. », 1989. [En ligne]. Disponible sur: <http://archive.rubicon-foundation.org/xmlui/handle/123456789/6853>. [Consulté le: 21-avr-2013].
- [3] Francis, TJR; Smith, DJ, « Describing Decompression Illness. », 1991. [En ligne]. Disponible sur: <http://archive.rubicon-foundation.org/xmlui/handle/123456789/4499>. [Consulté le: 21-avr-2013].
- [4] Ackles, KN, « Blood-Bubble Interaction in Decompression Sickness. », 1973. [En ligne]. Disponible sur: <http://archive.rubicon-foundation.org/xmlui/handle/123456789/3867>. [Consulté le: 21-avr-2013].
- [5] A. Hjelde, K. Bergh, A. O. Brubakk, et O. J. Iversen, « Complement activation in divers after repeated air/heliox dives and its possible relevance to DCS », *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* 1985, vol. 78, n° 3, p. 1140-1144, mars 1995.
- [6] K. Nilsson Ekdahl, B. Nilsson, M. Pekna, et U. R. Nilsson, « Generation of iC3 at the interface between blood and gas », *Scand. J. Immunol.*, vol. 35, n° 1, p. 85-91, janv. 1992.
- [7] T. Thorsen, R. T. Lie, et H. Holmsen, « Induction of platelet aggregation in vitro by microbubbles of nitrogen », *Undersea Biomed. Res.*, vol. 16, n° 6, p. 453-464, nov. 1989.
- [8] J.-M. Pontier, L. Bourdon, et Y. Jammes, *Agrégation plaquettaire induite par le phénomène bullaire lors de la décompression*, 1 vol. Marseille, France, 2010.
- [9] J.-M. Pontier, F. Guerrero, et O. Castagna, « Bubble formation and endothelial function before and after 3 months of dive training », *Aviat. Space Environ. Med.*, vol. 80, n° 1, p. 15-19, janv. 2009.
- [10] J.-M. Pontier, N. Vallée, et L. Bourdon, « Bubble-induced platelet aggregation in a rat model of decompression sickness », *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* 1985, vol. 107, n° 6, p. 1825-1829, déc. 2009.
- [11] A. O. Brubakk et A. Møllerlørkken, « The role of intra-vascular bubbles and the vascular endothelium in decompression sickness », *Diving Hyperb. Med. J. South Pac. Underw. Med. Soc.*, vol. 39, n° 3, p. 162-169, sept. 2009.
- [12] J.-M. Pontier, C. Jimenez, et J.-E. Blatteau, « Blood platelet count and bubble formation after a dive to 30 msw for 30 min », *Aviat. Space Environ. Med.*, vol. 79, n° 12, p. 1096-1099, déc. 2008.
- [13] J.-M. Pontier, J.-E. Blatteau, et N. Vallée, « Blood platelet count and severity of decompression sickness in rats after a provocative dive », *Aviat. Space Environ. Med.*, vol. 79, n° 8, p. 761-764, août 2008.
- [14] Bessereau et Coulange, « Place de l'aspirine dans le traitement médicamenteux de l'accident de désaturation », 2008. [En ligne]. Disponible sur: [http://c.ymcdn.com/sites/uhms.site-ym.com/resource/resmgr/dcs-age\\_journal\\_watch/bessereau\\_aspirin\\_therapie\\_2.pdf](http://c.ymcdn.com/sites/uhms.site-ym.com/resource/resmgr/dcs-age_journal_watch/bessereau_aspirin_therapie_2.pdf). [Consulté le: 21-avr-2013].
- [15] J.-M. Pontier, « ANTIAGREGANTS PLAQUETTAIRES ET ACCIDENT DE DECOMPRESSION CHEZ LE RAT: EFFET PROTECTEUR DU CLOPIDOGREL SUR LES MECANISMES D'AGREGATION INDUIT PAR LE PHENOMENE BULLAIRE », *Bull. Médecine Subaquat. Hyperb.*, vol. 21, n° 2, p. 33-47.
- [16] J.-M. Pontier, N. Vallée, M. Ignatescu, et L. Bourdon, « Pharmacological intervention against bubble-induced platelet aggregation in a rat model of

- decompression sickness », *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* 1985, vol. 110, n° 3, p. 724-729, mars 2011.
- [17] P. W. Catron, L. B. Thomas, J. J. McDermott, M. A. Holt, A. L. Harabin, et E. T. Flynn, « Failure of heparin, superoxide dismutase, and catalase to protect against decompression sickness », *Undersea Biomed. Res.*, vol. 14, n° 4, p. 319-330, juill. 1987.
- [18] K. H. Smith, P. J. Stegall, L. A. Harker, S. J. Slichter, et V. L. Richmond, « Investigation of Hematologic and Pathologic Response to Decompression. », mai 1978.
- [19] R. B. Philp, « THE AMELIORATIVE EFFECTS OF HEPARIN AND DEPOLYMERIZED HYALURONATE ON DECOMPRESSION SICKNESS IN RATS », mai 1964.
- [20] E. A. Montcalm-Smith, A. Fahlman, et S. R. Kayar, « Pharmacological interventions to decompression sickness in rats: comparison of five agents », *Aviat. Space Environ. Med.*, vol. 79, n° 1, p. 7-13, janv. 2008.
- [21] J.-E. Blatteau, A. O. Brubakk, E. Gempp, O. Castagna, J.-J. Risso, et N. Vallée, « Sildenafil pre-treatment promotes decompression sickness in rats », *Plos One*, vol. 8, n° 4, p. e60639, 2013.
- [22] A. Landolfi, Z. J. Yang, F. Savini, E. M. Camporesi, F. Faralli, et G. Bosco, « Pre-treatment with hyperbaric oxygenation reduces bubble formation and platelet activation », *Sport Sci. Heal.*, vol. 1, n° 3, p. 122-128, mai 2006.
- [23] S. R. Thom, D. Fisher, et J. M. Stubbs, « Platelet function in humans is not altered by hyperbaric oxygen therapy », *Undersea Hyperb. Med. J. Undersea Hyperb. Med. Soc. Inc*, vol. 33, n° 2, p. 81-83, avr. 2006.
- [24] F. L. Shaw, P. G. Winyard, G. R. Smerdon, P. J. Bryson, A. J. Moody, et P. Eggleton, « Hyperbaric oxygen treatment induces platelet aggregation and protein release, without altering expression of activation molecules », *Clin. Biochem.*, vol. 42, n° 6, p. 467-476, avr. 2009.
- [25] G. Ersöz, B. Ocakçioğlu, M. Baştuğ, H. Fiçicilar, et S. Yavuzer, « Platelet aggregation and release function in hyperbaric oxygenation », *Undersea Hyperb. Med. J. Undersea Hyperb. Med. Soc. Inc*, vol. 25, n° 4, p. 229-232, 1998.
- [26] « (Rapport Oxygénothérapie) - rapport\_oxygenotherapie.pdf » .
- [27] J.-E. Blatteau, E. Gempp, F.-M. Galland, J.-M. Pontier, J.-M. Sainty, et C. Robinet, « Aerobic exercise 2 hours before a dive to 30 msw decreases bubble formation after decompression », *Aviat. Space Environ. Med.*, vol. 76, n° 7, p. 666-669, juill. 2005.
- [28] U. Wisløff, R. S. Richardson, et A. O. Brubakk, « Exercise and nitric oxide prevent bubble formation: a novel approach to the prevention of decompression sickness? », *J. Physiol.*, vol. 555, n° Pt 3, p. 825-829, mars 2004.
- [29] F. Meziani, S. Mortaza - Circulating microparticules: A new actor in sepsis ?



## **7. ANNEXES**

## Annexe n°1 : Enregistrement ANSM

Agence nationale  
de sécurité du médicament  
et des produits de santé

### BORDEREAU D'ENREGISTREMENT RECHERCHES ET COLLECTIONS BIOLOGIQUES (RCB)

Date : 29/05/2013

#### 1. INFORMATIONS SUR LE DEMANDEUR

Raison sociale : Mr PONTIER Jean Michel  
(ou nom s'il ne s'agit pas d'une personne morale)

Catégorie : Institutionnel

Adresse : Hopital d'Instruction des Armées de St Anne

Ville : Toulon

Code postal : 83800

Pays : France

Nom du contact : Monsieur Roussel

Mail : nicolas.roussel112@gmail.com

Téléphone : 0620795159

Fax : 0561756774

#### 2. INFORMATIONS SUR LE DOSSIER

Titre complet de la recherche

Effet de l'oxygénothérapie hyperbare sur l'agrégation plaquettaire

Numéro ID RCB : 2013-A00807-38

Type RCB : Autres recherches biomédicales

Type de dossier : Dossier initial

Référence interne du demandeur : JMP01NR

## Annexe n°2 : Enregistrement CNIL



RÉCÉPISSÉ

**DÉCLARATION DE CONFORMITÉ À  
UNE MÉTHODOLOGIE DE  
RÉFÉRENCE**

Numéro de déclaration

**1676218 v 0**

du 03-06-2013

Monsieur ROUSSEL Nicolas  
10 CHEMINEMENT DU DR DASQUE  
L'AFFINITY - APT.A9  
31400 TOULOUSE

### Organisme déclarant

Nom : Monsieur ROUSSEL Nicolas

Service :

Adresse : 10 CHEMINEMENT DU DR DASQUE L'AFFINITY - APT.A9

Code postal : 31400

Ville : TOULOUSE

N° SIREN ou SIRET :

Code NAF ou APE :

Tél. : 06 20 79 51 59

Fax. :

### Traitement déclaré

Finalité : MRL - Recherches biomédicales

Transferts d'informations hors de l'Union européenne : Non

La délivrance de ce récépissé atteste que vous avez effectué une déclaration de votre traitement à la CNIL et que votre dossier est formellement complet. Vous pouvez mettre en œuvre votre traitement. Cependant, la CNIL peut à tout moment vérifier, par courrier ou par la voie d'un contrôle sur place, que ce traitement respecte l'ensemble des dispositions de la loi du 6 janvier 1978 modifiée en 2004. En tout état de cause, vous êtes tenu de respecter les obligations prévues par la loi et notamment :

- 1) La définition et le respect de la finalité du traitement,
- 2) La pertinence des données traitées,
- 3) La conservation pendant une durée limitée des données,
- 4) La sécurité et la confidentialité des données,
- 5) Le respect des droits des intéressés : information sur leur droit d'accès, de rectification et d'opposition.

Pour plus de détails sur les obligations prévues par la loi « informatique et libertés », consultez le site internet de la CNIL : « www.cnil.fr »

Fait à Paris, le 3 juin 2013  
Par délégation de la commission

Isabelle FALQUE PIERROTIN  
Présidente

## Annexe n°3 : Les contre-indications de la plongée scaphandre

F.F.E.S.S.M. C.M.P.N.

Édition du 4 janvier 2012

### CONTRE-INDICATIONS à la PLONGEE en SCAPHANDRE AUTONOME

Cette liste est indicative et non limitative. Les problèmes doivent être abordés au cas par cas, éventuellement avec un bilan auprès d'un spécialiste, la décision tenant compte du niveau technique (débutant, plongeur confirmé ou encadrant).  
En cas de litige, la décision finale doit être soumise à la Commission Médicale et de Prévention Régionale, puis en appel, à la Commission Médicale et de Prévention Nationale.

	Contre indications définitives	Contre indications temporaires
<b>Cardiologie</b>	Cardiopathie congénitale Insuffisance cardiaque symptomatique Cardiomyopathie obstructive Pathologie avec risque de syncope Tachycardie paroxystique BAV II ou complet non appareillés Maladie de Rendu-Osler Valvulopathies(*)	Hypertension artérielle non contrôlée Coronaropathies : à évaluer(*) Péricardite Traitement par anti-arythmique : à évaluer(*) Traitement par bêta-bloquants par voie générale ou locale : à évaluer (*) Shunt D G découvert après accident de décompression à symptomatologie cérébrale ou cochléo-vestibulaire(*)
<b>Oto-rhino-laryngologie</b>	Cophose unilatérale Évidement pétromastoldien Ossiculoplastie Trachéostomie Laryngocèle Déficit audio. bilatéral à évaluer (*) Otospongiose opérée Fracture du rocher Destruction labyrinthique uni ou bilatérale Fistule peri-lymphatique Déficit vestibulaire non compensé	Chirurgie otologique Épisode infectieux Polyposse nasosinusienne Difficultés tubo-tympaniques pouvant engendrer un vertige alterno-barique Crise vertigineuse ou au décours immédiat d'une crise Tout vertige non étiqueté Asymétrie vestibulaire sup. ou égale à 50%(6mois) Perforation tympanique(et aérateurs trans-tympaniques) Barotraumatismes de l'oreille interne ADD labyrinthique +shunt D-G : à évaluer(*)
<b>Pneumologie</b>	Insuffisance respiratoire Pneumopathie fibrosante Vascularite pulmonaire Asthme : à évaluer (*) Pneumothorax spontané ou maladie bulleuse, même opéré : à évaluer(*) Chirurgie pulmonaire	Pathologie infectieuse Pleurésie Traumatisme thoracique
<b>Ophthalmologie</b>	Pathologie vasculaire de la rétine, de la choroïde, ou de la papille, non stabilisées, susceptibles de saigner Kératocône au delà du stade 2 Prothèses oculaires ou implants creux Pour les N3, N4 , et encadrants : vision binoculaire avec correction <5/10 ou si un œil <1/10, l'autre <6/10	Affections aiguës du globe ou de ses annexes jusqu'à guérison Photokératectomie réfractive et LASIK : 1 mois Phacémulsification-trabéculéctomie et chirurgie vitro-rétinienne : 2 mois Greffe de cornée : 8 mois Traitement par bêta bloquants par voie locale : à évaluer(*)
<b>Neurologie</b>	Épilepsie Syndrome déficitaire sévère Pertes de connaissance itératives Éfraction méningée neurochirurgicale, ORL ou traumatique Incapacité motrice cérébrale	Traumatisme crânien grave à évaluer
<b>Psychiatrie</b>	Affection psychiatrique sévère Éthylisme chronique	Traitement antidépresseur, anxiolytique, par neuroleptique ou hypnogène Alcoolisation aiguë
<b>Hématologie</b>	Thrombopénie périphérique, thrombopathies congénitales. Phlébites à répétition, troubles de la crase sanguine découverts lors du bilan d'une phlébite. Hémophiles : à évaluer (*)	Phlébite non explorée
<b>Gynécologie</b>		Grossesse
<b>Métabolisme</b>	Diabète traité par insuline : à évaluer (*) Diabète traité par antidiabétiques oraux (hormis biguanides)	Tétanie / Spasmophilie
<b>Dermatologie</b>	Troubles métaboliques ou endocriniens sévères Différentes affections peuvent entraîner des contre-indications temporaires ou définitives selon leur intensité ou leur retentissement pulmonaire, neurologique ou vasculaire	
<b>Gastro-Entérologie</b>	Manchon anti-reflux	Hernie hiatale ou reflux gastro-œsophagien à évaluer
<b>Toute prise de médicament ou de substance susceptible de modifier le comportement peut être une cause de contre-indication</b> La survenue d'une maladie de cette liste nécessite un nouvel examen		
<b>Toutes les pathologies affectées d'un (*) doivent faire l'objet d'une évaluation, et le certificat médical de non contre indication ne peut être délivré que par un médecin fédéral</b>		
<b>La reprise de la plongée après un accident de désaturation, une surpression pulmonaire, un passage en caisson hyperbare ou autre accident de plongée sévère, nécessitera l'avis d'un Médecin Fédéral ou d'un médecin spécialisé selon le règlement intérieure de la C.M.P.N.</b>		

Effet de l'oxygénothérapie hyperbare sur la fonction plaquettaire

A Toulouse, le 16/12/2014

---

Il s'agit d'un essai clinique visant à étudier la fonction plaquettaire avant et après exposition à une séance d'OHB avec le protocole suivant : plongée en oxygène pur à 2,5 ATA pendant 30 minutes. L'étude porte sur différentes analyses.

Tout d'abord on constate une diminution significative du compte plaquettaire de 7 points en moyenne sans provoquer de thrombopénie.

Secondairement, on constate que l'OHB n'a pas d'effet sur le temps d'occlusion plaquettaire.

Ce protocole ne montre pas de diminution de l'agrégation plaquettaire, les tests d'agrégométrie réalisés ne varient pas de façon significative.

Enfin, on note une baisse significative des microparticules plaquettaires et endothéliales que l'on peut expliquer par l'effet anti-inflammatoire de l'OHB sur l'endothélium vasculaire.

Au total, selon ce protocole, l'OHB n'influence pas la fonction plaquettaire.

---

**Discipline administrative :** MÉDECINE GÉNÉRALE

---

**Mots-Clés :** OHB – essai clinique – fonction plaquettaire – agrégation – plongée – microparticules – temps d'occlusion plaquettaire.

---

Faculté de Médecine Rangueil – 133 route de Narbonne – 31062 TOULOUSE Cedex 04 - France

---

Directeur de thèse : Dr PONTIER Jean-Michel