

NNT : 2015SACLE016

THESE DE DOCTORAT
DE L'UNIVERSITE PARIS-SACLAY,
préparée à l'Université Evry-Val-d'Essonne

ÉCOLE DOCTORALE N°577

Structure et dynamique des systèmes vivants

Spécialité de doctorat (Sciences de la Vie et de la Santé)

Par

M. Mohamed Younes

**Facteurs de variation de l'activité cardiaque au repos, à l'effort et pendant la
récupération chez le cheval d'endurance**

Thèse présentée et soutenue à Orsay, Paris Sud le 04 décembre 2015

Composition du Jury :

Mme, Amory, Héléne : Professeure, Université de Liège, Président
M, Tordi, Nicolas : Professeur, Université de Franche-Comté, Rapporteur
M, Nottin, Stéphane : MCF HDR, Université d'Avignon, Rapporteur
M, Cottin, François : Professeur, Université Paris-Sud, Directeur de thèse
Mme, Robert, Céline : Professeure, Ecole vétérinaire d'Alfort, Co-directeur
M, Barrey, Eric : Docteur, INRA, Co-directeur de thèse



A

Monsieur le professeur François Cottin Directeur de cette Thèse.

Je tiens d'abord à vous exprimer toute ma gratitude et tous mes remerciements d'avoir accepté de diriger cette thèse.

Ma collaboration avec vous durant quatre ans m'a permis d'apprécier vos qualités scientifiques et humaines. Votre soutien pédagogique et psychologique et vos conseils permanents m'ont permis outre la réalisation de ce travail de thèse d'occuper des postes d'enseignement dans plusieurs établissements et de vivre cette satisfaction intellectuelle et morale de transmettre le savoir aux plus jeunes.

Je tiens ici à vous exprimer toute mon estime et mon sincère dévouement.

A

Madame le professeur Céline Robert Co-encadreur de cette thèse.

Je tiens à vous remercier des efforts et du temps que vous avez consacrés pour m'aider à réaliser ce travail.

J'ai une profonde admiration pour vos qualités scientifiques, votre rigueur et votre excellente organisation durant les nombreuses manips que nous avons effectuées ensemble.

Je n'oublierai jamais les milliers de kilomètres que nous avons effectués avec toute l'équipe de Genendurance pour récolter les mesures expérimentales.

A

Monsieur le DR Eric Barrey co-encadreur de thèse.

Vous êtes pour moi, une véritable banque de connaissances et ce dans tous les domaines scientifiques.

J'ai une sincère admiration pour votre intelligence et votre savoir faire.

Vous m'avez appris les règles, l'ergonomie et de l'efficacité au travail.

Merci pour les longues heures que vous m'avez consacrées malgré vos occupations.

Ce serait pour moi un grand plaisir et un honneur de pouvoir continuer à collaborer avec vous

A

Madame le professeur Véronique Billât Directrice du laboratoire UBIAE.

Je vous remercie de m'avoir accueilli dans votre laboratoire du Master au Doctorat.

Votre intelligence et votre vivacité m'ont donné dès le Master un élan extraordinaire pour avancer dans ma recherche. Je tiens à vous exprimer ici toute ma gratitude et tous mes remerciements pour votre encouragement

A tous les membres du laboratoire UBIAE de l'Université Evry Val d'Essonne :

Professeur Laurance Le Moyec

Docteur Laurance Hamard

Docteur Imane Momken

Docteur Sophie Besse

Docteur Thiery Loney

Doctorant Mohamed Ayachi

Doctorant Romain Niais

Je vous remercie tous pour votre collaboration et votre soutien durant la préparation de cette thèse. Soyez assurés de mes sentiments très cordiaux

A ma femme Mariem qui m'a apporté tout le bonheur et le reconfort depuis notre mariage. Qu'elle soit assurée de mon amour indéfectible.

A mon fils Adam qui a embelli notre vie depuis sa naissance il y a un an. .

A mon père le Docteur Moncef Younes Cardiologue.

*Sans lui je n'aurais jamais pu avancer et réussir dans mes études
D'abord par son aide matérielle, ensuite par son soutien moral toujours vivace, enfin
et surtout par sa patience et son excellente pédagogie à m'expliquer la physiologie
cardiaque et la rythmologie, sans oublier ses efforts pour relire et corriger ma thèse.
Qu'il soit assuré de mon affection éternelle.*

A ma mère Naziha

*Son amour et sa douceur depuis ma tendre enfance sont indélébiles.
Je n'oublierai jamais sa parole d'adieu à l'aéroport de Tunis en voyageant pour la
première fois en France "mon fils je veux être fière de toi »*

A mes frères Marouene, médecin, Adnane, medecin, et Malek le benjamin

*A mes deux sœurs Mariem, ingénieur Qualité à l'Hôpitalde la Princesse Grâce de
Monaco, Salma Médecin urgentiste à l'Hôpital de sousse*

Avec toute mon affection.

Résumé

Le cheval de race arabe présente des dispositions anatomiques et physiologiques très favorables à l'effort d'endurance. Cependant tous les chevaux ne sont pas aussi performants en course d'endurance : seuls les individus dotés de caractères génétiques et phénotypiques très adaptés (morphologie, métabolisme, locomotion ...) sont réellement performants dans cette discipline extrême.

Cette étude s'inscrit au sein du projet de recherche GenEndurance dont l'objectif final est de déterminer les relations entre caractères génotypiques, performances sportives et phénotype des chevaux de race Arabe spécialisés en course d'endurance. L'objectif de cette thèse était de trouver des critères cardiaques favorables en course d'endurance équestre à partir de l'analyse de l'activité cardiaque et de la variabilité de la fréquence cardiaque (VFC) au repos, à l'effort et pendant la récupération. Par ailleurs, sur un plan très appliqué, cette thèse a évalué les effets cardiaques de certaines modalités de dopage afin de prendre des mesures de prévention adaptées.

Grâce aux différentes études réalisées dans le cadre de cette thèse, nous avons identifié pour la première fois, des indices cardiaques en rapport avec la performance du cheval d'endurance. Il s'agit du temps de récupération cardiaque (TRC) et des paramètres de la VFC qui varient en fonction de l'âge du cheval et des conditions environnementales. Nous avons également démontré que 45% du TRC est d'origine héréditaire chez le cheval de race arabe. Ces résultats sont très utiles pour la sélection génétique des meilleurs reproducteurs en endurance. D'autre part, cette thèse a permis d'identifier les profils des chevaux à risque et de proposer des seuils de prédiction d'élimination en course en se basant sur la vitesse et les paramètres cardiaques mesurées avant l'élimination. Enfin dans le cadre de la lutte anti-dopage, cette thèse a exploré une nouvelle méthode non-invasive de détection des chevaux dopés par des substances bradycardisantes à partir des modifications caractéristiques de la VFC.

Mots-clés : variabilité cardiaque, endurance, génétique, dopage, âge, entraînement, performance

Abstract

Arabian horses have anatomical and physiological characteristics strongly adapted to endurance exercise. However, only horses which have particular genetic and phenotypic characteristics (breed, morphology, metabolism, locomotion...) are really efficient in endurance competitions. This study is part of the major research project "GenEndurance" which aimed at determining the relationships between genetics, performance and phenotypical characteristics in endurance horses of Arabian lineage.

The aim of this thesis was to find favorable cardiac criteria in endurance competitions from the analysis of heart rate variability (HRV) during rest, exercise and recovery. Moreover, this thesis has allowed highlighting the risks and doping methods in order to take appropriate preventive measures. This thesis is the first to demonstrate a relationship between cardiac index and performance (cardiac recovery) in endurance horses. The cardiac recovery time (CRT) and HRV index varied with age and environmental conditions. We also showed that heritability of CRT was estimated to 45% in endurance horses of Arabian breed. This information is very useful for breeding selection in endurance horses. Moreover, this study showed that it would be possible to predict elimination and detect unfit horses during endurance races using speed value and cardiac recovery variables collected one phase ahead of that of elimination. Finally, in the anti-doping framework, this thesis revealed a non-invasive method based on characteristic modifications in HRV for detecting horses medicated with bradycardic substances.

Keywords: Heart rate variability, endurance, genetics, age, training, performance

Table des matières

RESUME.....	6
ABSTRACT	7
LISTE DES TABLEAUX	13
LISTE DES FIGURES	14
LISTE DES ABREVIATIONS	16
INTRODUCTION.....	20
1. PRESENTATION DE LA DISCIPLINE.....	20
1.1. Historique.....	20
1.2. Epreuves et règlements	22
1.2.1. Déroulement des épreuves d'endurance	22
1.2.2. Catégories d'épreuves d'endurance.....	23
1.2.3. Contrôles vétérinaires en endurance.....	25
2. PROBLEMATIQUE DE L'ENDURANCE	27
2.1. Sur le plan sportif	27
2.2. Ethique et bien-être animal	27
3. PROJET GENENDURANCE.....	28
3.1. Phénotypage.....	28
3.1.1. Mensuration et morphologie.....	29
3.1.2. Métabolisme, métabolomique et résistance au stress oxydant	29
3.1.3. Mesures échocardiographiques	30

3.2. Génotypage.....	30
4. OBJECTIFS ET HYPOTHESES	31
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	33
1. RAPPELS DE PHYSIOLOGIE	33
1.1. Filières énergétiques.....	33
1.2. Bioénergétique de l'endurance.....	34
1.3. Consommation maximale d'oxygène	35
1.4. Typologie musculaire	38
1.5. Fourniture d'énergie aux muscles pendant l'effort d'endurance	39
1.6. Thermorégulation chez le cheval d'endurance	42
1.6.1. Production de chaleur	42
1.6.2. Mécanismes de dissipation de la chaleur.....	42
1.6.3. Conséquences sur l'équilibre hydro-électrolytique du cheval.....	44
2. PRINCIPAUX FACTEURS INFLUENÇANT LA PERFORMANCE DU CHEVAL D'ENDURANCE.....	48
2.1. Facteurs intrinsèques	48
2.1.1. Race.....	48
2.1.2. Génétique.....	50
2.1.3. Âge	51
2.1.4. Morphologie	52
2.1.4.1. Poids et tissu adipeux	52
2.1.4.2. Taille et morphologie	52
2.1.4.3. Peau et couleur de la robe.....	53
2.2. Facteurs extrinsèques.....	54
2.2.1. Entraînement	54
2.2.1.1. Consommation maximale d'oxygène (VO ₂ max).....	54
2.2.1.2. Coût énergétique.....	55
2.2.1.3. Adaptation musculaire et métabolique à l'entraînement	56

2.2.1.4.	Lactatémie	58
2.2.1.5.	Adaptation cardiorespiratoire à l'entraînement	59
2.2.2.	Cavalier	60
2.2.3.	Conditions météorologiques et profil de course	61
2.2.4.	Médication et dopage	63
2.2.4.1.	Les bêtabloquants et les alpha-2-agonistes.....	64
3.	PHYSIOLOGIE CARDIORESPIRATOIRE CHEZ LE CHEVAL.....	68
3.1.	Fonctionnement du système cardiorespiratoire.....	68
3.1.1.	Anatomie et physiologie cardiaque	68
3.1.2.	Système cardiorespiratoire du cheval au repos et à l'exercice	70
3.1.3.	Contrôle extrinsèque de l'activité cardiaque	72
3.1.3.1.	Système nerveux parasympathique	72
3.1.3.2.	Système nerveux sympathique	73
3.2.	Méthodes d'évaluation du système nerveux autonome (SNA)	74
3.2.1.	Méthodes non cardiovasculaires.....	74
3.2.2.	Méthodes cardiovasculaires.....	75
3.2.2.1.	Variabilité de la pression artérielle.....	75
3.2.2.2.	Arythmie sinusale respiratoire.....	75
3.2.2.3.	Mesures cardiaques et SNA.....	76
3.3.	Etude de la variabilité de la fréquence cardiaque (VFC)	77
3.3.1.	Méthodes d'analyse de la variabilité cardiaque.....	77
3.3.1.1.	Domaine temporel	77
3.3.1.1.1.	Analyse statistique.....	77
3.3.1.1.2.	Analyse géométrique	78
3.3.1.2.	Domaine fréquentiel : analyse spectrale.....	80
3.3.1.3.	Domaine temps-fréquence.....	82
3.3.1.3.1.	La transformée de Fourier à court terme (STFT)	82
3.3.1.3.2.	Pseudo-transformation de Wigner-Ville lissée (SPWVD)	84
3.3.2.	Signification physiologique des indices de la VFC.....	85
3.3.2.1.	Activité parasympathique et indices de la VFC	85
3.3.2.2.	Activité sympathique et indices de la VFC	86
3.3.3.	Facteurs de variation de la VFC	87
3.3.3.1.	Effet du stress sur la FC et la VFC chez le cheval	87
3.3.3.2.	Effet de l'âge sur la FC et la VFC	88

3.3.3.3. Effet de l'entraînement sur la FC et la VFC.....	89
3.4. La récupération cardiaque chez le cheval.....	92
Rappel de l'objectif de la thèse.....	95
CONTRIBUTION PERSONNELLE : PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES.....	96
1. ÉTUDE DU TEMPS DE RECUPERATION ET DES FACTEURS INFLUENÇANT LA RECUPERATION : EXPLOITATION DES FICHIERS DE DONNEES SUR 120 COURSES D'ENDURANCE (2007-2011).....	96
1.1. Résumé	96
1.2. Publication	97
1.3. Conclusion de l'article et perspectives.....	115
2. ESTIMATION DU RISQUE D'ELIMINATION EN COURSE D'ENDURANCE A PARTIR DE L'ANALYSE DE LA VITESSE ET DU TEMPS DE RECUPERATION CARDIAQUE.	116
2.1. Résumé	116
2.2. Publication	117
2.3. Conclusion de l'article et perspectives.....	131
3. ESTIMATION DE L'HERITABILITE DES FACTEURS CARDIAQUES EN COURSE D'ENDURANCE.....	132
3.1. Résumé	132
3.2. Publication	133
3.3. Conclusion de l'article et perspectives.....	144
4. ANALYSE DE LA VARIABILITE DE LA FREQUENCE CARDIAQUE (VFC) AU COURS DU REPOS, DE L'EFFORT ET DE LA RECUPERATION CHEZ DES JEUNES CHEVAUX D'ENDURANCE.....	145
4.1. Résumé	145

4.2. Publication	146
4.3. Conclusion de l'article et perspectives.....	168
5. EFFET DES BETA-BLOQUANTS ET DES ALPHA-2-AGONISTES SUR LA VARIABILITE CARDIAQUE AU REPOS ET POST EFFORT CHEZ LE CHEVAL.	169
5.1. Résumé	169
5.2. Publication	170
5.3. Conclusion de l'article et perspectives.....	182
6. DISCUSSION GENERALE	183
6.1. Rappel des objectifs et des résultats.....	183
6.2. Résultats : apports de la thèse	185
6.2.1. Risque d'élimination en course d'endurance.....	185
6.2.2. Sélection des chevaux d'endurance.....	187
6.2.3. Dopage en course d'endurance.....	188
6.2.4. Maturation cardiaque du cheval d'endurance.....	190
6.3. Limites du travail et solutions proposées	191
6.3.1. Matériels utilisés.....	191
6.3.2. Effectifs	194
6.4. Perspectives.....	196
7. CONCLUSION GENERALE.....	198
BIBLIOGRAPHIE.....	200
ARTICLES DE PERIODIQUES.....	200
TRAVAUX UNIVERSITAIRES	222
COMMUNICATION DANS UN CONGRES	223
SITES WEB CONSULTES.....	223

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les différentes épreuves d'endurance.	25
Tableau 2 : Caractéristiques des différents types de fibres musculaires	38
Tableau 3 : Répartition des fibres musculaires du muscle moyen fessier selon les races des chevaux.....	39
Tableau 4 : Comparaison des rendements énergétiques de la glycolyse et de la β -oxydation	41
Tableau 5 : Teneur en électrolytes de la sueur et du plasma chez l'homme et le cheval	45
Tableau 6 : Particularités comparées de l'athlète équin et du sportif humain ...	70
Tableau 7 : Indices de la variabilité cardiaque dans le domaine temporel	78

Liste des figures

Figure 1 : Evolution du nombre de compétitions internationales en endurance depuis 20 ans.	22
Figure 2 : Déroulement des courses d'endurance..	23
Figure 3 : Mise en jeu des trois filières du métabolisme énergétique en fonction de la durée et de l'intensité de l'effort	34
Figure 4 : Evolution de la consommation d'O ₂ et du quotient respiratoire (RER) en fonction de la vitesse chez 5 chevaux d'endurance de race Arabe.	37
Figure 5 : Surface corporelle par rapport au poids chez le cheval et chez l'homme	43
Figure 6 : Conséquences schématiques des mécanismes de thermorégulation.	48
Figure 7 : Pourcentage de chevaux classés dans les 5 premières places par année chez les chevaux de race Arabe et de croisé Arabe.....	49
Figure 8 : Effet de l'entraînement sur la VL4.	58
Figure 9 : Rôle des récepteurs α et β dans la régulation cardiovasculaire.....	65
Figure 10 : Conformation intérieure du cœur du cheval : coupe transversale . .	69
Figure 11 : Le potentiel d'action dans une cellule nodales et cellule myocardique.	69
Figure 12 : Appareil respiratoire du cheval montrant pourquoi certaines parties sont plus susceptibles de subir un collapsus dynamique à l'exercice.....	71
Figure 13 : Schéma explicatif de l'innervation sympathique et parasympathique.	73
Figure 14 : Variation de la fréquence cardiaque en fonction de l'activité sympathique et parasympathique.....	74
Figure 15 : Ajustement de la pression artérielle par rétrocontrôle de l'arc baroréflexe.....	75
Figure 16 : Illustration de l'effet des interactions entre les déterminants périphériques et centraux de l'arythmie sinusale respiratoire..	76
Figure 17 : Histogramme de densité de distribution des périodes R-R.	79
Figure 18 : Graphe de Poincaré Plot pour la période R-R d'un cheval d'endurance à l'effort.....	80
Figure 19 : Exemple de tachogramme et de périodogramme d'un sujet éveillé en position allongée.....	82

Figure 20 : Transformée de Fourier à court terme (STFT) d'un enregistrement cardiaque (RR) d'un cheval au repos.....	83
Figure 21 : Analyse temps-fréquence de Pseudo Wigner-Ville Lissée d'un enregistrement cardiaque (RR) du cheval d'endurance au repos.....	85
Figure 22 : Variabilité cardiaque illustrée par Poincaré plot.....	90
Figure 23 : Forme générale de la courbe de récupération cardiaque.....	93
Figure 24 : Exemple des enregistrements cardiaque (RR) de bonne qualité (a), qualité moyenne (b) et de mauvaise qualité (c) mesurés chez des jeunes chevaux d'endurance.....	193
Figure 25 : ECG de bonne qualité (a) et de mauvaise qualité (b) suite au détachement d'une ou de deux électrodes pendant l'effort.	194

Liste des abréviations

AFLD : Agence française de lutte contre le dopage
AMM : Autorisation de Mise sur le Marché
AR : Auto-régression
AS : Analyse spectrale
ASR : Arythmie sinusale respiratoire
ATP : Adénosine Tri Phosphate
CCE : Concours complet d'équitation
CE : Coût énergétique
CEI : Concours de raid d'Endurance International
CEIO : Concours de raid d'Endurance International Officiel
CEN : Concours de raid d'Endurance National
CSO : Concours de saut d'obstacles
FC : Fréquence cardiaque
FCmax : Fréquence cardiaque maximale
FCR : Fréquence cardiaque de récupération
FEI : Fédération Equestre Internationale
FFE : Fédération Française d'Equitation
FFT : Transformée rapide de Fourier
FR : Fréquence respiratoire
HF : Haute fréquence
IFCE : Institut français du cheval et de l'équitation
JEM : Jeux Equestres Mondiaux
LC : Longueur corporelle
LF : Basse fréquence
PA : Pression artérielle
PC : Pli cutané
PS : Système para-sympathique
PSD : Densité de puissance spectrale
QC : Débit cardiaque
QR : Quotient respiratoire

QTL : Quantitative trait loci
RA : Réserve d'accélération
RMN : Résonance magnétique nucléaire
S : Système sympathique
SHF : Société Hippique Française
SNA : Système nerveux autonome
SNP : Single-nucleotide polymorphism
SPWVD : Analyse temps-fréquence de pseudo Wigner- Ville lissée
STFT : Transformée à court terme de Fourier
TRC : Temps de récupération cardiaque
ULF : Ultra basse fréquence
V160 : Vitesse pour une fréquence cardiaque de 160 battements par minute
V200 : Vitesse pour une fréquence cardiaque de 200 bpm battements par minute
VE : Ventilation
VES : Volume d'éjection systolique
VLA4 : Vitesse à 4 mmol de lactate
VLF : Très basse fréquence
VO2max : Consommation maximale d'oxygène
VT : Volume courant

Liste de travaux et articles

Articles

1. Younes M, Robert C, Cottin F and Barrey E. **Speed and Cardiac Recovery Variables Predict the Probability of Elimination in Equine Endurance Events.** *PLoS One*. 2015 Aug 31;10(8) : e0137013. doi: 10.1371/journal.pone.0137013.
2. Younes M, Robert C, Barrey E and Cottin F. **Heart rate variability during exercise and recovery in young endurance horses.** *Frontiers in Physiology* 30 Octobre, 2015.
3. Younes M, Barrey E, Cottin F and Robert C. **Speed, cardiac recovery and epidemiologic analysis of risk for elimination in long-distance equestrian endurance races (80-160 km).** *Comparative Exercise Physiology* (en préparation).
4. Younes M, Robert C, Blouin C, Cottin F and Barrey E. **Estimates of heritability of cardiac recovery in long distance endurance horses.** *Genetics Selection Evolution* (en préparation).
5. Younes M, Cottin F, Lavoisier S, Barrey E and Robert C. **Effet des Bêta-bloquants et des Alpha-2-agonistes sur la variabilité cardiaque au repos et post effort chez le cheval.** *International Journal of Sports Medicine*, (en préparation).
6. Filliau C, Younes M, Blanchard A-L, Piscione J, Van de Louw A, Seguret C, Israel J, and Cottin F. **“Effect of ‘Touch Rugby’ Training on the Cardiovascular Autonomic Control In Sedentary Subjects.”** *International Journal of Sports Medicine*, March 17, 2015. doi:10.1055/s-0034-1398648.
7. Filliau C, Younes M, Landrain M, Van de Louw A & Cottin F Christophe Filliau, Mohamed Younes, Morgan Landrain, Andry Van de Louw & François Cottin. **“Effect of aging and sleep stage on cardiorespiratory autonomic control”.** *Sleep Medicine*, (en préparation).

Communications orales et posters

1. Younes M, Robert C, Cottin, F, Barrey E. (2013) **Y-a-t-il une relation entre la vitesse, la récupération cardiaque et le risque d'élimination en course d'endurance de longue distance (80 à 160 km)?** Compte-rendu de la 39^{ème} Journée de la Recherche Equine (Paris), 18-27.
2. Younes M, Robert C, Cottin F, and Barrey E. “**Genetic Component of Endurance Ability.**” Equine Veterinary Journal 46 (June 1, 2014): 15–15. doi:10.1111/evj.12267_46. (International Conference on Equine Exercise Physiology, Liverpool. 2014).
3. Robert C, Younes M, Borgetto B, and Barrey E. “**Standardized Exercise Test in Young Endurance Horses.**” Equine Veterinary Journal 46 (June 1, 2014): 13–13. doi:10.1111/evj.12267_39. (International Conference on Equine Exercise Physiology, Liverpool. 2014).

Introduction

L'endurance équestre est une discipline sportive pratiquée individuellement ou en équipe est caractérisée par des épreuves d'extérieur courues à vitesse libre ou imposée sur un itinéraire balisé avec des contrôles vétérinaires validant la capacité du cheval à parcourir de longues distances (*FFE 2015*). Cette discipline sportive est en plein développement dans le monde entier. Actuellement, ce sport n'est pas encore admis comme discipline olympique contrairement au dressage, au concours de saut d'obstacles (CSO) et au concours complet d'équitation (CCE). Ceci s'explique par le développement très récent de la discipline, par le coût d'organisation des épreuves équestres aux JO (le coût d'organisation des trois disciplines équestres olympiques est égal à celui de l'ensemble de l'athlétisme) et par la mauvaise image médiatique de l'endurance associée à l'exploitation et à l'épuisement des chevaux. Les épreuves d'endurance nécessitent une bonne aptitude physique et une bonne préparation sportive pour accomplir à la fois un parcours de longue distance et préserver la santé du cheval.

Le cheval d'endurance est un mammifère qui présente des dispositions anatomiques et physiologiques très favorables à l'effort d'endurance. Cependant tous les chevaux ne sont pas performants en course d'endurance : seuls les individus dotés de caractères génotypiques et phénotypiques particuliers (race, morphologie, métabolisme, locomotion,...) sont réellement performants dans cette discipline.

1. Présentation de la discipline

1.1. *Historique*

Le cheval arabe est originaire du Moyen-Orient. C'est la race la plus ancienne, des fouilles archéologiques ayant prouvé que des chevaux caspiens, très proches physiquement de l'arabe, vivaient en Mésopotamie dès la plus haute antiquité. Le cheval arabe a participé aux conquêtes et aux guerres dès l'Antiquité ; il

représentait un moyen robuste, rapide et indispensable pour conquérir des territoires. Les premiers pur-sangs arabes arrivent en France au VIII^e siècle et ont ainsi pris part à la bataille de Poitiers (732). L'endurance équestre trouve historiquement son origine dans le besoin de communication et de transfert d'informations à travers les continents. Jusqu'au siècle dernier, le cheval représentait le seul moyen rapide de communication. Il a permis d'assurer les services postaux tels que le Pony express qui reliait le Missouri à San Francisco, et en Europe, les services postaux anglais ou polonais (*FFE 2014*).

Au cours du XIX^e siècle, les premières compétitions d'endurance apparaissent en Europe, en Australie et aux États-Unis. A cette époque, les conditions de course étaient très difficiles et l'état de santé des chevaux à l'arrivée n'étaient pas du tout pris en compte.

En France, c'est en 1970 que l'endurance équestre débute officiellement, avec un nombre très modeste de 400 participants ; celui-ci atteint les 7000 participants en 1999. En 1990, l'endurance est devenue la deuxième discipline équestre en France tant en nombre de compétiteurs qu'en nombre d'épreuves organisées au niveau national et international (1445 épreuves) (*FFE 2014*). En 2011, près de 2 800 courses ont été organisées dans le monde, représentant plus de 20 500 engagements de couples cavalier-cheval (*FEI 2014*).

Au niveau international, l'endurance équestre est devenue une discipline réglementée par la Fédération Equestre Internationale (FEI) en 1982. La FEI a imposé un règlement strict avec des contrôles vétérinaires pour réduire au maximum les accidents sur les courses. En 1988, le premier Championnat du Monde d'endurance équestre a été organisé aux Émirats Arabes Unis et depuis, le nombre des participants a beaucoup augmenté dans le monde entier. En 2007, l'endurance équestre est devenue la deuxième discipline équestre dans le monde avec 192 épreuves de haut niveau (*FEI 2014*) (Figure 1).

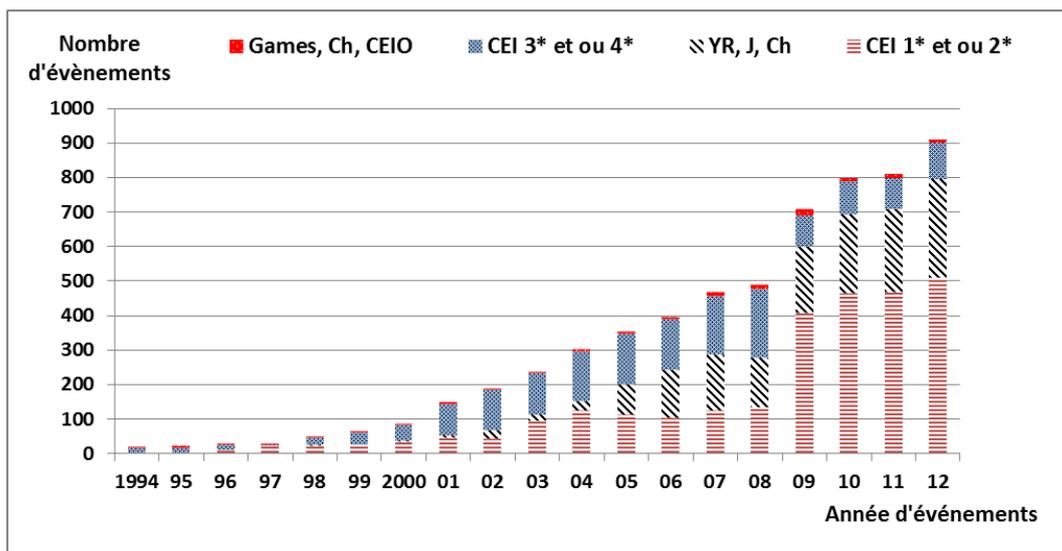


Figure 1 : Evolution du nombre de compétitions internationales en endurance depuis 20 ans (FEI 2014). Games = Jeux Equestres Mondiaux, CH = Championnat. YR, J, Ch = compétitions et championnats (Ch) pour jeunes cavaliers (YR) et junior (J).

1.2. Epreuves et règlements

1.2.1. Déroulement des épreuves d'endurance

L'endurance équestre est une discipline réglementée par la Fédération Equestre Internationale (FEI) au niveau mondial et la Fédération Française d'Equitation (FFE) au niveau national. Cette discipline est une course de fond pratiquée à cheval et en pleine nature sur une longue distance - de 20 km à 160 km en une journée ou sur plusieurs jours - à une vitesse encadrée. La vitesse est dite "libre" si seule une vitesse minimale est imposée (le plus souvent 12 km/h) et qu'il n'y a pas de limite maximale ; la vitesse est dite "imposée" lorsque la vitesse moyenne autorisée doit être comprise entre deux bornes (12 à 15 km/h par exemple). Cette course chronométrée doit être effectuée le plus rapidement possible tout en conservant une monture en parfait état de santé (FEI 2014). Des contrôles vétérinaires obligatoires sont réalisés de façon régulière tous les 20 à 40 km le long du parcours (Figure 2). Ils garantissent la bonne santé du cheval, car tout trouble évident (déshydratation, boiterie, épuisement ...) entraîne sa disqualification. Le premier critère évalué lors de ces contrôles est la fréquence cardiaque (FC). Le seuil de FC fixé par le règlement pour pouvoir continuer la

course est généralement de 64 battements par minutes (bpm) mais il peut varier selon le type d'épreuve (Tableau 1). En épreuve à vitesse libre, le temps nécessaire au cheval pour récupérer et atteindre cette FC est compté dans le temps de course. Les chevaux mettant plus de 20 minutes à descendre à 64 bpm sont disqualifiés (FEI 2014).

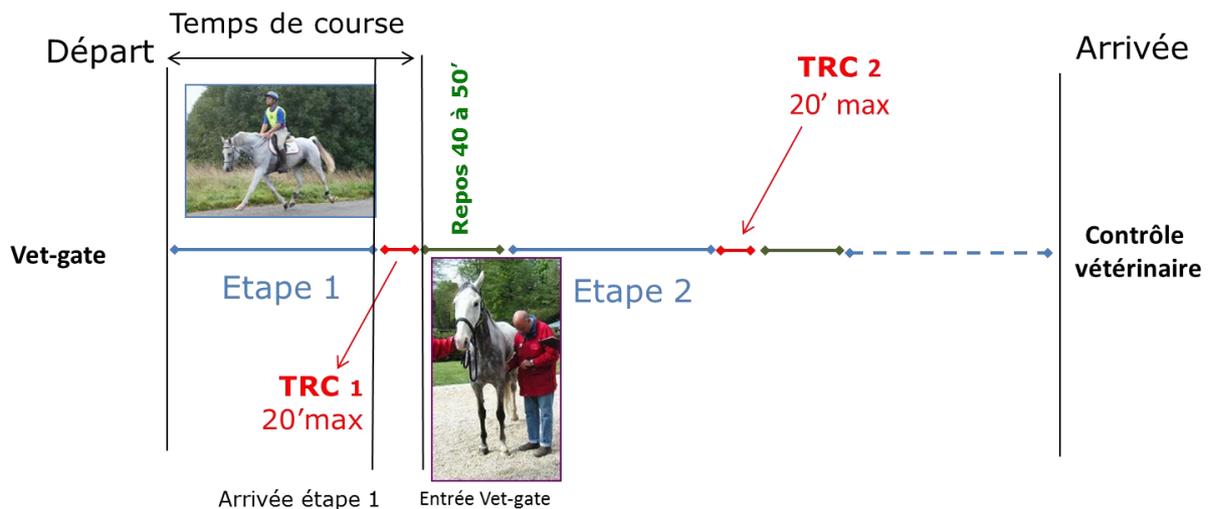


Figure 2 : Déroulement des courses d'endurance à vitesse libre. TRC = temps de récupération cardiaque, Vet-gate = contrôle vétérinaire.

1.2.2. Catégories d'épreuves d'endurance

➤ Les épreuves à vitesse limitée comprennent :

Les épreuves club et les épreuves amateur 1 à 4. Les épreuves club sont des courses d'initiation : elles se déroulent sur des distances de 10 km (Club 4) à 60 km (Club élite Grand Prix) avec des vitesses de 6-8 km/h à 12-15 km/h. Les épreuves amateur 1 à 4 se déroulent sur des distances de 20 (Am4) à 90 km (Am1) à une vitesse entre 12 et 15 km/h (16 km/h pour l'Am1).

Pour ces deux catégories d'épreuves, le classement est établi en fonction de la vitesse et de la fréquence cardiaque finale selon l'équation suivante :

$$([\text{Vitesse} \times 2] - \text{Vitesse minimale}) \times 100 / \text{Fréquence cardiaque finale}$$

Le gagnant est celui qui obtient le résultat le plus élevé (FFE 2014).

✓ Les épreuves à vitesse libre regroupent :

- les Concours de raid d'Endurance National (CEN) ; divisés en Amateur 1 GP (90 km), Amateur élite (130 km) et Amateur élite GP (160 km).

- les Concours de raid d'Endurance International (CEI) ; ils se déroulent sur les distances de :

- 80-119 km sur une journée = épreuves 1 étoile, courues en trois étapes ;
- 120 à 139 km sur une journée = épreuves 2 étoiles en quatre étapes ;
- 140 à 160 km en une journée ou 2 x 80 à 100 km sur 2 jours = épreuves 3 étoiles en six étapes.

- les Concours de raid d'Endurance International Officiel (CEIO) où il y a un classement par équipe et un classement individuel alors qu'il n'y a qu'un classement individuel pour les CEN et CEI.

Pour toutes ces épreuves, la vitesse minimum est de 12 km/h et le classement se fait au chronomètre, le gagnant n'étant validé qu'après un dernier contrôle vétérinaire et l'accord du président du jury.

✓ Les épreuves d'élevage :

Les épreuves d'élevage sont réservées aux chevaux âgés de 4 à 6 ans. Elles se déroulent selon le même schéma que les épreuves à vitesse imposée et les CEN* mais elles n'ont pas lieu en même temps qu'elles. Elles sont programmées par la société hippique française (SHF). Le circuit jeunes chevaux comporte trois niveaux : régional, interrégional et finale nationale (*SHF 2015*) (Tableau 1).

Tableau 1 : Les différentes épreuves d'endurance (SHF 2015 ; FFE 2014 ; FEI 2014).

Epreuves	Distance (km)	Vitesse (km/h)	Nombre d'étapes	Fréquence cardiaque finale maximale (bpm)	Age minimum du cheval (ans)
Amateur 4	20-30	12 à 15	1	64	4
Amateur 3	40	12 à 15	2	64	4
Amateur 2	60	12 à 15	2 ou 3	64	5
Amateur 1	90	12 à 16	3	64	6
Epreuves d'élevage des jeunes chevaux (SHF)					
Régionale 4 ans	20	10 à 12	1	60-64	Réservé aux 4 ans
Régionale 5 ans	20 + 40	12 à 15			Réservé aux 5 ans
Régionale 6 ans	20 + 40 + 60 + 80	12 à 15 (20, 40 et 60 km) ; 12 à 16 (80 km)			Réservé aux 6 ans
Interrégionale 4 ans	20	12 à 15	1	60-64	Réservé aux 4 ans
Interrégionale 5 ans	40	12 à 15	2	60-64	Réservé aux 5 ans
Interrégionale 6 ans	80	12 à 16	3	60-64	Réservé aux 6 ans
finale nationale 4 ans	40	12 à 15	2	60-64	Réservé aux 4 ans
finale nationale 5 ans	60	12 à 15	2	60-64	Réservé aux 5 ans
finale nationale 6 ans	90	12 à 16	3	60-64	Réservé aux 6 ans
Concours de raid d'Endurance National (CEN)					Age minimum
Amateur 1 GP	80 à 119	≥12	3 ou 4 si distance > 110 km	64	5
Amateur élite	120 à 139	≥ 12	4	64	6
Amateur élite GP	140 à 160	≥ 12	5-ou 6	64	7
Concours de raid d'Endurance International (CEI)					Age minimum
CEI*	80 à 119	≥ 12	3	64	6
CEI**	120 à 139	≥ 12	≥ 4	64	7
CEI***	140 à 160	≥ 12	≥ 5	64	8

1.2.3. Contrôles vétérinaires en endurance

En endurance équestre, les vétérinaires occupent une fonction essentielle pour le bon déroulement de la course. Leur rôle consiste à assurer divers contrôles avant, pendant et à la fin de la course. Le règlement impose la présence minimum d'un vétérinaire pour vingt à vingt-cinq chevaux engagés et de trois vétérinaires par aire de contrôle (FEI 2014).

✓ Avant la course

Le contrôle initial se déroule avant l'épreuve et vise principalement à vérifier l'identité, les vaccinations et la capacité physique du cheval avant sa participation à la course.

✓ Pendant la course

Des contrôles intermédiaires sont obligatoires après chaque étape de la course tous les 20 à 40 km. Ces examens vétérinaires visent à déterminer si le cheval est apte ou non à participer à l'étape suivante. À son arrivée, le cheval entre dans l'aire de grooming où l'assistance du cavalier l'aide à récupérer à l'aide de différentes techniques de refroidissement. Le chronomètre ne s'arrête que lorsque le cheval est présenté au contrôle vétérinaire avec une fréquence cardiaque inférieure au seuil d'élimination (généralement 64 bpm) (Tableau 1). Le temps de récupération autorisé par le règlement est de 20 min sur les épreuves à vitesse libre et 30 minutes sur les épreuves à vitesse limitée. Chaque cavalier n'est autorisé qu'à deux présentations par étape.

Le contrôle vétérinaire comporte deux examens :

- Un examen métabolique au cours duquel sont évalués la FC, la présence éventuelle de bruits cardiaques anormaux, la fréquence respiratoire, la couleur des muqueuses, le temps de réplétion capillaire et les bruits digestifs (*FEI 2014*).
- Un examen des allures sur une piste de 30 mètres au moins pour évaluer l'intégrité de l'appareil locomoteur du cheval : le cheval effectue un aller et retour au trot. Une boiterie est éliminatoire si elle persiste sur le trajet aller et retour.

✓ A la fin de la course

Un contrôle final a lieu dans les 20 à 30 minutes qui suivent l'arrivée du cheval. Ce contrôle est identique au contrôle intermédiaire mais avec une seule présentation autorisée. L'objectif de ce contrôle final est d'obliger les cavaliers à faire le maximum pour préserver la santé et le bien-être du cheval jusqu'à la fin de la course.

2. Problématique de l'endurance

2.1. Sur le plan sportif

La France est le pays leader dans les courses d'endurance équestre au niveau mondial. C'est la discipline équestre qui rapporte le plus de médailles à la France avec 51 médailles entre 1984 et 2004 dont 21 médailles d'or. En 2014 parmi les 10 premiers cavaliers au classement mondial, 3 sont français. D'autre part, l'élevage français est réputé dans le monde entier et les chevaux nés en France sont vendus à des prix élevés (*FFE 2014*). Sur les jeux Equestres Mondiaux (JEM) 2014, 36% des partants et 42% des chevaux à l'arrivée étaient nés en France. Parmi les 10 premiers classés sur les épreuves individuelles, 80% des chevaux étaient Français et 90% du podium sur les épreuves par équipe. Au total avec ces résultats, la France occupe la première place mondiale en endurance équestre, aussi bien au niveau de l'élevage qu'au niveau sportif. D'autre part, on constate l'augmentation de la valeur des enjeux politiques et de la concurrence internationale pour occuper la place de leader dans cette discipline.

2.2. Ethique et bien-être animal

L'évolution des méthodes d'entraînement et la professionnalisation de la discipline avec la création d'écuries spécialisées dans l'entraînement et l'élevage des chevaux d'endurance ont conduit à une amélioration remarquable de la performance sur les courses. En 2000 les courses de 160 km se couraient à des vitesses moyennes de 15 km/h et en 2008 la vitesse moyenne était supérieure à 18 km/h sur la même distance de course. Cette hausse des vitesses semble être la cause de l'augmentation du nombre d'éliminations sur les épreuves d'endurance (*Marlin et al. 2008*). Une autre étude de *Nagy et al. en 2010* réalisée sur 4326 partants a permis d'évaluer à 54% la proportion d'éliminés lors des contrôles vétérinaires, 69% pour boiterie et 23,5% pour trouble métabolique. Ces pourcentages d'élimination sont encore plus élevés sur les JEM de 2014 organisés en Normandie avec 77% de chevaux éliminés. Ces événements incitent les organismes de protection animale à s'opposer à cette discipline et à la considérer comme dangereuse pour l'animal. Il y a donc actuellement un véritable enjeu à améliorer l'image de la discipline pour éviter son interdiction dans les années qui viennent. Les travaux de recherche sur cet

exercice extrême et la capacité d'adaptation des chevaux ont donc une importance stratégique sur le plan économique et sportif.

3. Projet GenEndurance

Le projet GenEndurance a été créé en 2011 par les Dr Eric Barrey et Céline Robert et financé par l'Institut Français du Cheval et de l'Équitation (IFCE), le Fonds Eperon et l'Association du Cheval Arabe (ACA). L'objectif du projet GenEndurance est de déterminer les critères **phénotypiques et génotypiques associés à la performance** chez le cheval de race Arabe spécialisé pour les courses d'endurance afin de proposer aux éleveurs, cavaliers et entraîneurs des outils pratiques et peu invasifs d'aide à la caractérisation de leurs chevaux. La performance en endurance résulte de multiples composantes (squelette, musculature, métabolisme aérobie et anaérobie...) et constitue un caractère complexe (une part liée à l'environnement, et une part liée au génotype avec intervention d'un grand nombre de gènes). Le projet GenEndurance propose le déploiement d'une large campagne de phénotypage des caractères morphologiques, locomoteurs, physiologiques et métaboliques sur plusieurs générations de chevaux d'endurance. En parallèle, les mêmes chevaux seront génotypés à partir d'un prélèvement sanguin afin de mesurer globalement leur potentiel génétique et de détecter des marqueurs génétiques associés aux performances en course d'endurance. Avec ces deux approches complémentaires, il devrait être possible à terme de profiler le potentiel d'un jeune cheval d'après un génotypage sur prélèvement sanguin et d'après une série de mesures validées comme étant prédictives de la performance.

3.1. Phénotypage

La récolte des données à l'occasion de séances de mesure et de prélèvements réalisées dans plusieurs régions françaises entre 2011 et 2014 sur des chevaux d'endurance a permis de trouver des critères phénotypiques liés à la performance sur différents plans : morphologique, métabolique et cardiaque.

3.1.1. Mensuration et morphologie

Cette première étape a permis de caractériser la morphologie du cheval d'endurance de haut niveau. Comparé au cheval de race Selle Français, le cheval de race Arabe spécialisé pour l'endurance est plus petit, a une encolure proportionnellement plus longue, une scapula plus horizontale, un fémur plus long et plus horizontal, un angle du jarret plus fermé et un canon plus court. Sur les 54 paramètres morphologiques et morphométriques obtenus pour chaque cheval, seuls quatre critères apparaissent significativement liés à la performance. Un indice distance plus élevé est associé à une longueur corporelle (LC) plus grande, un pli cutané (PC) moins épais et un angle du grasset plus fermé ($p < 0,05$). Un indice de performance vitesse élevé est associé à un fémur plus horizontal ($p < 0,05$) (*Tribout et al. 2014*).

3.1.2. Métabolisme, métabolomique et résistance au stress oxydant

Les plasmas prélevés avant et après l'épreuve de 90 km sur les chevaux de 6 ans ont été analysés par spectroscopie RMN et les profils métabolomiques avant et après course ont été comparés en utilisant la méthode OPLS. Les métabolismes protéique, glycoprotéique et lipidique apparaissent fortement modifiés par la course ; ceci confirme la forte demande énergétique associée à l'effort d'endurance et explique l'apparition possible de troubles métaboliques en course. Ainsi, une corrélation positive a été trouvée entre des marqueurs lipidiques et la vitesse moyenne de la course chez les chevaux classés (*Le Moyec et al. 2014*). Les espèces réactives oxygénées (ROS) secondaires ont été mesurées de façon globale par photo-réaction standardisée dans le sérum des chevaux de 6 ans prélevés avant et après l'épreuve de 90 km sur les finales SHF à Uzès. L'étude des corrélations entre les valeurs obtenues et les résultats sur la course par régression linéaire et comparaison de moyennes montre une corrélation entre la capacité anti-oxydante et les enzymes musculaires (CK et SGOT) dans le plasma aussi bien avant qu'après la course ($p < 0,05$). Les chevaux les plus rapides sur la course ont une résistance au stress oxydatif plus élevée avant la course ($p < 0,05$) (*Robert et al. 2014*).

3.1.3. Mesures échocardiographiques

L'étude des examens échocardiographiques réalisés sur 74 chevaux en 2011 et 122 chevaux en 2012 montre que la taille du cœur augmente entre 4 et 6 ans. La dimension du ventricule gauche augmente de manière significative entre 5 et 6 ans, la taille de l'atrium gauche augmente entre 4 et 5 ans, les dimensions de l'aorte et le volume d'éjection cardiaque augmentent avec l'âge ($p < 0,05$), ce qui n'est pas le cas pour l'artère pulmonaire (*Trachsel et al. 2014a*). La plupart des mesures du ventricule gauche augmentent avec le poids et la hauteur au garrot. La race a une influence sur la taille et le diamètre interne du ventricule gauche. Toutes les mesures de l'atrium et des gros vaisseaux augmentent avec la taille du cheval (*Trachsel et al. 2014b*). Le rôle de l'entraînement dans le développement cardiaque et une éventuelle relation avec le potentiel sportif du cheval restent à évaluer.

3.2. Génotypage

Le génotypage des chevaux a été effectué sur la puce SNP comportant 74.000 marqueurs génétiques. Après contrôle qualité, 56.200 SNPs étaient utilisables (fréquence allélique minimale $\geq 1\%$, Call rate $> 80\%$ et p -value $\leq 10^{-8}$ au test de Hardy-Weinberg). L'analyse a été réalisée sur la population de 597 chevaux (performers et collatéraux) présentant à la fois un génotype exploitable et des indices de performance sur la période 2002-2011 ($IRE_{distance}$, $IRE_{vitesse}$, $IRE_{classement}$ et IRE_{global}) en prenant en compte les effets sexe, âge, nombre de courses et environnement. Des modèles mixtes de détection de QTL incluant soit l'effet d'un seul allèle SNP et effets polygéniques, soit effets du génotype SNP et effets polygéniques ont été utilisés. Tous les QQ plots étaient corrects avec un coefficient de régression = 0,98-1,06.

Des SNP significativement associés à l'aptitude à l'endurance ($pvalue \leq 10^{-5}$) ont été trouvés sur les chromosomes 6 et 16 pour la distance totale de course et 6, 7, 16 et 29 pour le classement (*i.e.* le fait de finir la course). Pour la conformation, un SNP est significativement associé ($pvalue \leq 10^{-5}$) au rapport périmètre thoracique / longueur corporelle sur le chromosome 1 et à la hauteur

au garrot sur le chromosome 3 chez les chevaux croisés arabes uniquement (Ricard et al. 2014).

4. Objectifs et hypothèses

Les chevaux ne sont pas tous performants sur les courses d'endurance et il semble que certains caractères génotypiques et phénotypiques soient plus favorables aux performances. Ces critères sont retrouvés chez le cheval Arabe, race la plus représentée à haut niveau sur les compétitions d'endurance.

Cette thèse s'inscrit dans le cadre plus large du projet « GenEndurance » présenté ci-dessus. L'objectif de la thèse est de préciser les critères du fonctionnement cardiaque liés à la performance du cheval d'endurance à partir de l'analyse des variations de l'activité cardiaque (FC et VFC) au repos, à l'effort et pendant la récupération. L'étude a également pour objectif de mettre en évidence les effets sur la fonction cardiaque de certaines molécules utilisées pour améliorer la performance en course d'endurance afin de proposer des mesures de détection.

- ✓ Dans une première partie, nous étudierons les risques d'élimination et les facteurs influençant la récupération cardiaque en course d'endurance, par deux études réalisées sur 7032 chevaux de différents pays engagés sur des épreuves de 80 à 160 km.
- ✓ Dans une deuxième partie, afin de mieux cerner le profil le plus adapté à l'endurance et sa part génétique, une estimation de l'héritabilité des performances et des facteurs cardiaques en course d'endurance a été réalisée.
- ✓ Dans une troisième partie, nous présenterons les résultats d'une étude expérimentale menée sur 77 jeunes chevaux à l'occasion de tests d'efforts standardisés de terrain. Les résultats de cette étude permettent de préciser les effets de l'âge, de la durée de l'exercice et du lieu des tests sur la variabilité cardiaque (VFC) au repos, à l'effort et pendant la récupération.
- ✓ Enfin dans une quatrième partie, nous étudierons un des facteurs extrinsèques influençant la récupération cardiaque : le dopage. Nous présenterons une étude expérimentale préliminaire pour l'élaboration

d'une méthode non invasive de détection des substances cardio-modératrices par l'analyse de la variabilité cardiaque.

Cette thèse permet de répondre à trois questions principales :

- 1- Le temps de récupération est-il un bon critère de sélection pour les chevaux d'endurance ?
- 2- Quels sont les effets de l'âge sur la performance physique en général et cardiaque en particulier chez le cheval d'endurance ?
- 3- Les médications bradycardisantes potentiellement utilisées pour faciliter le passage des contrôles vétérinaires engendrent-elles des modifications de l'activité cardiaque significatives et facilement détectables ? Ont-elles un effet sur la performance et peuvent-elles donc être considérées comme produits dopants ?

Ce travail original vise à proposer de nouveaux outils pour les cavaliers, les éleveurs et les vétérinaires afin de les aider à optimiser la performance des chevaux et à prévenir les troubles métaboliques pouvant se produire en course d'endurance.

Revue bibliographique

1. Rappels de physiologie

1.1. Filières énergétiques

La réalisation d'un effort physique nécessite l'intervention de mécanismes physiologiques et énergétiques complexes afin de fournir une quantité suffisante d'énergie au muscle pour accomplir un effort donné.

La production d'un travail mécanique par les muscles résulte de trois voies métaboliques qui transforment les substrats énergétiques consommés (lipides, glucides et protéines) en énergie chimique (ATP) qui est convertie par les muscles en énergie mécanique.

La production de l'énergie (ATP) par les différentes voies métabolique varie en fonction de la durée et l'intensité de l'effort demandé.

- ✓ La **voie anaérobie alactique** (ATP-CP) : l'objectif est de fournir le plus rapidement possible assez d'énergie pour produire un effort bref et très intense (haltérophilie chez l'homme, sauts d'obstacles chez le cheval ...). Cette voie utilise principalement l'ATP et la phosphocréatine disponibles à l'état brut dans les muscles.
- ✓ La **voie anaérobie lactique** est utilisée pour fournir de l'ATP en dégradant le glucose provenant du glycogène intra musculaire ou le glucose sanguin. Cette voie est utilisée pour les efforts un peu plus longs et moins intenses. Exemple : course de 200 m chez l'homme et 1000 m pour les chevaux de course.
- ✓ La **voie aérobie** a pour particularité de fournir de l'ATP en détruisant le glucose intra musculaire ou sanguin et les acides gras mis en réserve dans la cellule musculaire et l'organisme. Les réactions métaboliques ont lieu dans la mitochondrie de la cellule musculaire en présence d'oxygène (O₂) avec un temps de latence dû au temps d'importation de l'oxygène de l'extérieur vers le système sanguin (le temps d'accrochage cardio-pulmonaire). Cette voie est utilisée pour les efforts de longue durée et de

faible intensité comme le marathon chez l'homme et les épreuves d'endurance équestre.

Il est important de noter qu'au début de chaque exercice physique, les trois voies métaboliques se mettent en route au même temps pour fournir de l'énergie, mais avec des proportions différentes selon le type d'effort (Figure 3).

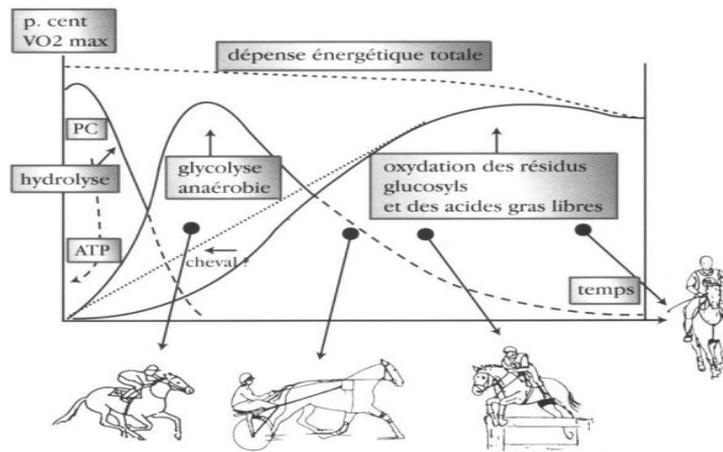


Figure 3 : Mise en jeu des trois filières du métabolisme énergétique en fonction de la durée et de l'intensité de l'effort (Art et al. 2000a).

1.2. Bioénergétique de l'endurance

L'endurance est un exercice à vitesse modérée, sur du long terme. L'énergie nécessaire à l'effort est principalement issue du métabolisme aérobie des acides gras et du glycogène dans les fibres musculaires à contraction lente et à contraction intermédiaire (Smith 1985). Les réactions du métabolisme aérobie peuvent être résumées par cette équation :

Substrats énergétiques (glucose, acides gras) + O₂ → CO₂ + H₂O + Energie + Chaleur. (Carlson 1994 ; Fowler 1980 ; Langlois 2006).

La capacité aérobie d'un cheval est variable. On appelle capacité de travail aérobie d'un cheval, la vitesse qu'il peut atteindre avec une fréquence cardiaque de 150 battements par minutes (Smith 1985). Elle peut augmenter avec l'entraînement, mais dépend surtout des conditions extérieures (Ancelet 2014 ; Marlin et al. 2013) et de la race des chevaux (Castejón et al. 1994 ; Castejón-Riber et al. 2012 ; Langlois 2006).

Au-delà d'une certaine vitesse, le cheval risque de parvenir au seuil du métabolisme aérobie (Langlois 2006 ; Marlin et al. 2013 ; Smith 1985). Cette vitesse varie entre 18 et 36 km/h selon les chevaux. Elle peut être augmentée avec l'entraînement, par exemple en réalisant régulièrement des exercices plus rapides que pendant les courses (Billat et al. 2000 ; Marlin et al. 2013). Quand le seuil est atteint, le métabolisme anaérobie du glycogène dans les fibres musculaires à contraction rapide induit notamment une production d'acide lactique et de protons H⁺ qui, lorsqu'ils s'accumulent dans les fibres musculaires, provoquent une chute de pH et une diminution des capacités enzymatiques (Langlois 2006 ; Ohmura et al. 2010 ; Smith 1985). Le travail anaérobie ne peut être réalisé que quelques minutes avant de ressentir la fatigue et d'être obligé de s'arrêter. A l'allure maximale, l'effort ne peut être soutenu par le cheval que sur une distance de 800 mètres (Castejón et al. 1994).

Pendant une épreuve de 100 km, le cheval d'endurance consomme environ 32 unité fourragère cheval (1 UFC=2200 kcal d'énergie digestible), fournies essentiellement par le métabolisme aérobie (Barrey 1993 ; Cottin et al. 2010). En endurance, les complications liées à l'accumulation de l'acide lactique sont rares (Berman 2003 ; Rose 1986 ; Smith 1985). Pendant la course d'endurance, le cheval fournit principalement un travail aérobie et la faible quantité d'acide lactique produite pendant la course est éliminée par le foie (Berman 2003 ; Cottin et al. 2010). De plus, avec l'entraînement, la tolérance à l'acide lactique s'accroît (Flaminio et al. 1996 ; Marlin et al. 2013).

1.3. Consommation maximale d'oxygène

C'est la quantité maximale d'oxygène (VO₂max) prélevé au niveau des poumons et utilisé par les muscles lors d'un exercice dynamique aérobie maximal (exprimée en ml.min⁻¹.kg⁻¹ ou en l.min⁻¹). La VO₂max est un bon indicateur de la performance en endurance et de l'aptitude aérobie chez l'homme ainsi que chez le cheval (Billat et al. 2010 ; Kenny 2009 ; Mukai et al. 2006).

La mesure de la VO₂max est moins utilisée chez le cheval par rapport à l'homme pour des raisons techniques et par crainte des accidents qui peuvent survenir à des intensités maximales sur tapis roulant. En effet, les chevaux doivent avoir été habitués au tapis roulant avant de faire le test. Le protocole le plus couramment utilisé chez le cheval pour mesurer la VO₂max est celui de Evans et Rose en 1987. Ce protocole se pratique avec une pente constante avec des

paliers de 1 m/s toutes les minutes jusqu'à ce que le cheval ne puisse plus maintenir l'allure sur le tapis roulant.

Il faut noter que la consommation d'oxygène est en relation directe avec le fonctionnement du système cardiorespiratoire. Cela se traduit par l'équation de Fick : **$VO_2\text{max} = Q_c \cdot (AO_2 - VO_2)$** .

Q_c : débit cardiaque = Volume d'éjection systolique (VES) × Fréquence cardiaque (FC)

$AO_2 - VO_2$ = différence artérioveineuse en O_2 .

A l'exercice, la FC augmente en fonction de l'intensité de l'effort jusqu'à FC max. Le VES augmente aussi au prorata de l'intensité de l'exercice mais son maximum est généralement atteint à 40%-60% de $VO_2\text{max}$ chez les sédentaires alors que chez les sujets entraînés le VES continue à augmenter jusqu'à des intensités plus élevées (*Billat et al. 2010 ; Kenny 2009*). En même temps, la différence artérioveineuse en O_2 augmente puisque la demande énergétique est plus importante au niveau des muscles actifs. L'évolution de ces paramètres physiologiques se traduit par une augmentation linéaire de VO_2 en fonction de la vitesse jusqu'à un seuil où l'intensité augmente et la VO_2 ne grimpe plus, cette valeur est la $VO_2\text{max}$.

Quand la VO_2 s'approche de $VO_2\text{max}$, on observe une perte de linéarité entre VO_2 et l'intensité de l'exercice. Cela s'explique par une demande énergétique en anaérobie plus importante. Ce phénomène est visible à environ 20 km/h chez l'homme (*Lacour 1992*) et 46,8 km chez le cheval sur tapis roulant (*Eaton et al. 1995*).

Chez l'homme, on trouve des valeurs de $VO_2\text{max}$ en moyenne de $45 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ (10 fois plus que le métabolisme de repos) et $35 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ chez la femme. Il existe en effet une très grande variabilité interindividuelle liée à plusieurs facteurs dont principalement l'entraînement (*Billat 2013 ; Monod et Flandrois. 2003*). Des valeurs de $VO_2\text{max}$ de 80 à $84 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ ont été mesurées chez des athlètes d'endurance et des skieurs de fond. La valeur la plus élevée de $VO_2\text{max}$ enregistrée chez un homme est celle d'un skieur de fond norvégien dont la $VO_2\text{max}$ était de $94 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$. Chez les femmes, la valeur la plus élevée est de $77 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ mesurée chez une skieuse de fond. En revanche, des adultes en très mauvaise condition physique peuvent avoir des $VO_2\text{max}$ de $20 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ (*Billat 2003 ; Kenny 2009*).

Chez le cheval, la consommation d'O₂ est de 3 à 5 ml.min⁻¹.kg⁻¹ au repos (*Eaton et al 1995*). A l'effort on trouve des valeurs de VO₂max de 100 à 135 ml.min⁻¹.kg⁻¹ chez le cheval sédentaire (*Art et al 2000a*) contre 140 à 190 ml.min⁻¹.kg⁻¹ chez l'animal entraîné (*Evans et Rose 1987 ; Kitaoka et al. 2011 ; Rose et al. 1990*). L'étude de *Moris en 1991* a montré que la VO₂max chez les pur-sang et les trotteurs est presque identique (164 et 165 ml.min⁻¹.kg⁻¹ respectivement). Une autre étude réalisée chez le cheval d'endurance, a montré une relation linéaire entre la vitesse et la consommation d'oxygène pendant un test d'effort standardisé de terrain (Figure 4) (*Cottin et al. 2010*). A 18 km/h (Winning speed) le cheval d'endurance présente une VO₂ (42 ml.min⁻¹.kg⁻¹) inférieure au cheval de course (50,1 ml.min⁻¹.kg⁻¹) et au cheval de selle (70,8 ml.min⁻¹.kg⁻¹) (*Art et al. 2006 ; Cottin et al. 2010 ; Leprêtre et al. 2009*). Ces résultats montrent que le cheval d'endurance a un coût énergétique (CE) moins élevé que les autres races pendant les efforts modérés. En plus à des vitesses modérées (18-20 km/h), le cheval d'endurance présente un quotient respiratoire (RER = VCO₂/VO₂) inférieur à 1, ce qui reflète la dominance du métabolisme aérobie pour fournir de l'ATP à partir de l'oxydation des lipides pendant les épreuves d'endurance (*Cottin et al. 2010*). Tous ces critères physiologiques rendent le cheval de race Arabe le plus adapté à parcourir des longues distances.

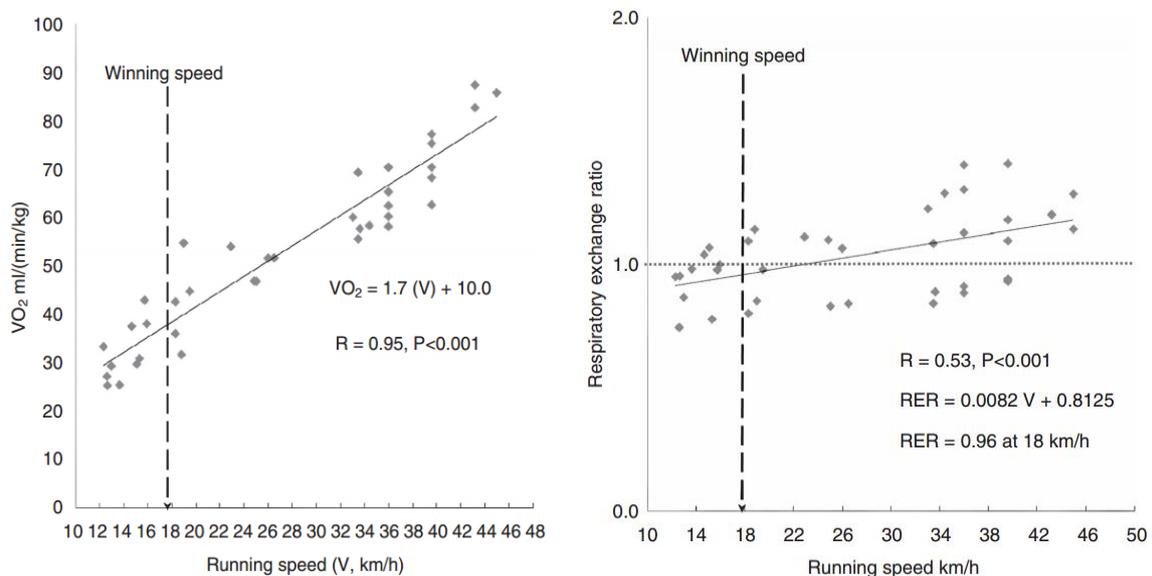


Figure 4 : Evolution de la consommation d'O₂ et du quotient respiratoire (RER) en fonction de la vitesse chez 5 chevaux d'endurance de race Arabe (*Cottin et al. 2010*).

1.4. Typologie musculaire

Le tissu musculaire est loin d'être homogène. On peut classer les fibres musculaires selon leurs propriétés contractiles et métaboliques en plusieurs types (tableau 2) :

- ✓ **Les fibres de type I** sont des fibres oxydatives à contraction lente qui possèdent un réseau capillaire développé et un nombre élevé de mitochondries. Ces fibres sont adaptées aux épreuves de longue durée et de faible intensité.
- ✓ **Les fibres de types II** ou fibres rapides sont réparties en trois catégories :
 - Les fibres IIa sont des fibres mixtes qui ont un pouvoir oxydatif intermédiaire. Ces fibres développent une force plus élevée et plus rapide que les fibres de type I.
 - Les fibres IIb ou IIx sont des fibres à contraction rapide qui travaillent en mode anaérobie et qui développent une force élevée mais de très courte durée.
 - Les fibres IIc sont des formes de transition entre les fibres de type IIa et IIb.

Tableau 2 : Caractéristiques des différents types de fibres musculaires (*Oldham et al. 1990 ; Snow et al. 1994*).

	Type I	Type Iia	Type IIb ou IIx
Travail :			
-Force	+	++	+++
-Fatigabilité	+	++	+++
Contractilité :			
-Vitesse de contraction	+	++	+++
-Tension maximale	+	+++	+++
Métabolisme :			
-Capacité glycolytique	+	+++	+++
-Capacité oxydative	+++	++	+
Nature du substrat énergétique :			
-Glycogène	++	+++	+++
-Lipides	+++	++	+

La répartition de différents types de fibres musculaires varie selon la race, l'âge et l'entraînement du cheval (*Oldham et al. 1990 ; Rivero et al. 1991, 2006*). Plusieurs études ont montré que l'entraînement des chevaux en endurance provoque une augmentation du nombre de fibres de type IIa par rapport aux fibres IIb, ce qui est plus favorable aux épreuves de longue durée (*Oldham et al. 1990 ; Rivero et al. 1993, 2001, 2006*). Le cheval de pur-sang arabe a une proportion plus élevée de fibres oxydatives de type I et IIA que les autres races. Ces caractéristiques musculaires lui permettent de mieux s'adapter et résister aux épreuves de longue durée (*Rivero et al. 1991, 1992*). Le tableau 3 illustre la répartition des différents types de fibres musculaires selon les races de chevaux.

Tableau 3 : Répartition des fibres musculaires du muscle fessier moyen selon les races de chevaux (*Oldham et al. 1990 ; Rivero et al. 1991*). (moyenne (écartype)).

Race	Fibre I	Fibre Iia	Fibre IIb ou IIX
Quarter Horse	6,8 (1,0)	48,3 (2,3)	44,9 (2,3)
Pur-sang Anglais	12,5 (1,5)	50,7 (1,8)	36,8 (2,2)
Trotteur	24 (3,6)	49 (3,1)	27 (3,3)
Arabe	30,4 (5,8)	41,7 (4,2)	27,9 (3,4)
Poney	22,5 (2,6)	40,4 (2,3)	37,1 (2,8)
Cheval de chasse	30,8 (3,1)	37,1 (3,3)	37,8 (2,8)
Pure Race Espagnole	29,5 (6,7)	38,7 (6,8)	31,8 (4,3)

1.5. Fourniture d'énergie aux muscles pendant l'effort d'endurance

L'exercice physique nécessite un apport d'énergie augmenté de 25 à 100% par rapport au repos (*Flaminio et al. 1996 ; Langlois 2006*). L'énergie nécessaire au fonctionnement musculaire a plusieurs origines selon la durée de l'effort :

- l'ATP et la Créatine Phosphate : ce sont les premiers substrats utilisés, mais les réserves musculaires sont infimes (*Smith 1985 ; Votion et al. 2012*).

- les glucides : ils sont principalement utilisés lors d'un effort intense, ou au début d'un effort prolongé (*Flaminio et al. 1996*).

Le glucose sanguin ne constitue pas un substrat conséquent (*Smith 1985*). Il est transporté jusqu'aux muscles et sa concentration diminue rapidement (*Flaminio et al. 1996 ; Rose 1986*). En réponse à l'hypoglycémie, le taux de glucagon augmente, ce qui provoque la stimulation de la néoglucogenèse hépatique à partir de l'acide lactique, de l'acide pyruvique et du glycérol (*Flaminio et al. 1996*).

C'est le glycogène qui représente la source d'énergie glucidique la plus importante (*Flaminio et al. 1996 ; Smith 1985*). Ses réserves se situent dans le foie et les muscles. Le premier site ne permet qu'un maintien de la glycémie alors que le second constitue la véritable source d'énergie (*Berman 2003*). Le glycogène musculaire est initialement mobilisé dans les fibres à contraction lente, puis dans les fibres à contraction rapide (*Foreman 1998*). Il est dégradé en glucose puis utilisé dans le métabolisme musculaire (*Rose 1986*). C'est la glycolyse aérobie qui permet la plus forte production d'énergie (Tableau 4).

Pendant une course d'endurance, les réserves en glycogène musculaire sont réduites de 50 à 100%. En cas d'hypoglycémie et d'épuisement des stocks glucidiques, on assiste à un ralentissement, voire à un arrêt de l'activité musculaire (*Berman 2003 ; Foreman 1998 ; Langlois 2006*) et à une diminution des capacités d'oxydation des acides gras (*Berman 2003 ; Flaminio et al. 1996*). Cependant, avec l'entraînement, les réserves en glycogène peuvent être accrues (*Foreman 1998*).

- les lipides : Il s'agit de la meilleure source du métabolisme aérobie (*Flaminio et al. 1996 ; Votion et al. 2012*). Ils sont principalement utilisés lors d'un effort long d'intensité modérée comme l'endurance (Tableau 4).

Ils sont constitués des acides gras libres issus, soit directement des triglycérides musculaires, soit de la libération depuis les tissus adipeux présents dans l'organisme (*Berman 2003 ; Flaminio et al. 1996 ; Rose 1986 ; Smith 1985*). Les acides gras libres fournissent alors de l'énergie exclusivement via leur oxydation dans les fibres musculaires (*Rose 1986 ; Votion et al. 2012*). Leur utilisation permet donc une diminution de l'accumulation d'acide lactique et un retard dans l'atteinte de la fatigue (*Flaminio et al. 1996 ; Votion et al. 2012*).

Tableau 4 : Comparaison des rendements énergétiques de la glycolyse et de la β -oxydation (Rose 1986).

	Par mole de glycogène		Par mole d'acide gras libre
	Glycolyse aérobie	Glycolyse anaérobie	β -oxydation
Production d'ATP	37 mol	3 mol	138 mol

L'utilisation des acides gras pendant les épreuves d'endurance permet d'économiser les réserves en glycogène pour d'autres fonctions vitales de l'organisme (Cottin et al. 2010 ; Flaminio et al. 1996 ; Rose 1986). Ainsi, l'entraînement favorise l'utilisation des lipides au détriment du glycogène. Néanmoins, ils ne peuvent pas constituer l'unique source d'énergie. En effet, la mobilisation des acides gras depuis les réserves de l'organisme prend du temps et constitue le facteur limitant leur utilisation (Billat et al. 2010 ; Rose 1986).

Par ailleurs, la production d'énergie est variable selon la disponibilité en O_2 . En effet, pour 1 mol d' O_2 consommée, l'oxydation du glycogène fournit 10% d'ATP en plus que celle des acides gras (Rose 1986). Il existe donc un équilibre entre ces deux sources d'énergie, et leur exploitation varie en fonction de la durée et de l'intensité de l'exercice (Billat et al. 2010 ; Langlois 2006).

Outre les conséquences liées à l'épuisement des réserves énergétiques, un exercice prolongé a également pour effet à long terme un changement de la perméabilité membranaire des fibres musculaires, sans association systématique avec des lésions graves (Rose 1986). Il est donc normal d'observer une augmentation de la concentration plasmatique de certaines enzymes musculaires comme la Créatine Phospho-Kinase (CPK). Le changement de perméabilité membranaire s'explique par une diminution du pH musculaire liée à l'accumulation d'acide lactique et de H^+ . Lorsque ces modifications deviennent majeures, les conséquences ne sont plus négligeables. Elles peuvent avoir un effet sur le fonctionnement cellulaire et sur les fonctions de certains organes (Flaminio et al. 1996 ; Langlois 2006). En cas de libération massive de myoglobine dans la circulation sanguine, les reins ne parviennent plus à l'éliminer en totalité et sont vite saturés (Berman 2003). Les régimes

alimentaires pour les chevaux d'endurance sont souvent constitués de grandes quantités de fourrage et de faibles quantités d'aliments concentrés contrairement aux autres athlètes équins (*Spooner et al. 2010*). Ainsi la supplémentation en électrolytes est souvent recommandée pour les chevaux participant aux épreuves d'endurance pour garder un bon fonctionnement des mécanismes de thermorégulation (*Spooner et al. 2010 ; Waller et al. 2014*).

1.6. Thermorégulation chez le cheval d'endurance

1.6.1. Production de chaleur

La production de chaleur est la conséquence normale et prévisible d'un exercice (*Carlson 1994*). Il s'agit du résultat obligatoire des réactions métaboliques d'oxydation (*Carlson 1994 ; Langlois 2006 ; Rose 1986*). La production de chaleur est 40 à 60 fois plus élevée pendant l'effort qu'au repos (*Benamou-Smith 2003*).

La chaleur libérée par un cheval courant à 18 km/h varie entre 6000 (*Smith 1985*) et 7500 kcal/h (*Feldman 1994*). Elle dépend de plusieurs paramètres, dont la taille du cheval, la durée et l'intensité de l'exercice réalisé.

Les muscles sont les principaux responsables de la thermogénèse. Lors d'un déplacement, seuls 20 à 25% de l'énergie dépensée par les muscles sont convertis en travail mécanique, alors que les 75 à 80% restant sont dissipés sous forme de chaleur (*Benamou-Smith 2003 ; Feldman 1994 ; Flaminio et al. 1996 ; Foreman 1998 ; Langlois 2006*).

Ainsi, pendant une épreuve, la température corporelle d'un cheval peut augmenter de 3 à 4°C ; mais, sans les mécanismes de thermorégulation, cette dernière pourrait s'accroître jusqu'à 15°C par heure, et l'hyperthermie serait inévitable (*Flaminio et al. 1996 ; Langlois 2006*). Des mécanismes de dissipation de la chaleur produite sont donc indispensables.

1.6.2. Mécanismes de dissipation de la chaleur

La comparaison de la surface corporelle par rapport au poids entre l'homme (80 kg) et le cheval (500 kg) montre que ce dernier a une surface corporelle de dissipation deux fois inférieure à l'homme (Figure 5).

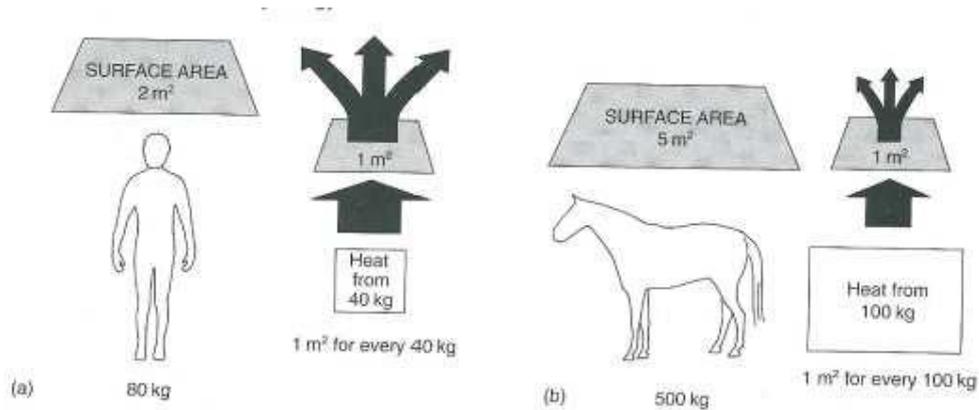


Figure 5 : Surface corporelle par rapport au poids chez le cheval et chez l'homme (Art et al. 2000).

C'est par des échanges de chaleur entre l'organisme et le milieu ambiant que la dissipation de chaleur est la plus importante (Langlois 2006). Ils se produisent sous 2 formes principales :

- Pertes de chaleur sensible par :

- conduction : la chaleur est cédée entre le corps et les surfaces en contact. L'air étant un mauvais conducteur thermique, cette modalité de dissipation de chaleur est mineure chez le cheval d'endurance.
- convection : la chaleur est perdue lors du renouvellement des molécules d'air ambiant réchauffées au contact du corps (l'air chaud s'élève). Ce mécanisme est potentialisé en présence de vent, mais est au contraire altéré si la peau est recouverte de beaucoup de poils.
- radiation : la chaleur est éliminée par la surface du corps par l'émission d'un rayonnement électromagnétique proche de l'infrarouge.

- Pertes thermiques latentes par :

- transpiration ou perspiration : la chaleur est perdue par l'évaporation de l'eau depuis les couches superficielles de la peau.
- polypnée thermique : la chaleur est perdue par l'évaporation de l'eau à la surface des muqueuses respiratoires.

Chez le cheval d'endurance, ce sont principalement ces phénomènes d'évaporation qui permettent l'élimination de la chaleur produite (Carlson 1994 ; Flaminio et al. 1996 ; Langlois 2006 ; Rose 1986). Environ 65% de la chaleur est dissipée sous forme de transpiration, et 30% par les mécanismes respiratoires (Flaminio et al. 1996). Pendant une compétition, un cheval perd ainsi 10 à 15

litres d'eau par heure, soit 2 à 3,5 % de son poids vif par heure, ce qui peut correspondre à une perte finale de 5 à 6 % du poids vif (*Feldman 1994 ; Flaminio et al. 1996*). Avec l'entraînement, le seuil de transpiration diminue et la quantité de sueur produite augmente, ce qui retarde l'apparition de l'hyperthermie et réduit la concentration en électrolytes (*Foreman 1998 ; Langlois 2006 ; Rose 1986*).

La capacité de refroidissement est fortement influencée par des facteurs individuels (un embonpoint marqué la détériore par exemple) et des facteurs environnementaux (*Carlson 1994 ; Flaminio et al. 1996 ; Langlois 2006*). En milieu frais, la convection peut constituer l'unique mécanisme de pertes caloriques sans que la transpiration soit nécessaire. En revanche, des températures extérieures et une humidité relative élevées sont plus difficiles pour la thermorégulation (*Benamou-Smith 2003 ; Flaminio et al. 1996*). La transpiration est indispensable et 70 à 80 % de l'élimination de la chaleur se fait par ce biais, surtout au niveau des fessiers et de l'encolure (*Benamou-Smith 2003*).

1.6.3. Conséquences sur l'équilibre hydro-électrolytique du cheval

✓ La thermorégulation induit une déshydratation

La déshydratation provoquée par les mécanismes de thermorégulation s'explique par l'évaporation d'eau depuis la surface de la peau et les surfaces respiratoires. Elle peut être causée par la polypnée thermique. Ce processus est mineur chez le cheval, car cet animal n'a pas la capacité d'haleter (*Smith 1985*). Il peut quand même permettre l'élimination de 30% de la chaleur produite, notamment dans des conditions de température extérieure et d'humidité relative élevées, où la chaleur excédentaire ne peut pas être entièrement dissipée par la transpiration (*Flaminio et al. 1996*).

C'est **la transpiration** qui se révèle être le mécanisme essentiellement responsable de la déshydratation observée chez les chevaux pendant une épreuve d'endurance. Avec des conditions extérieures normales, la perte de 4% du poids vif à l'issue d'une épreuve peut être considérée comme prévisible et

sans conséquence pathologique. En revanche, si la température extérieure ou l'humidité relative s'élèvent, le risque pathologique augmente.

Les effets de la déshydratation sont bien connus chez l'homme et sont loin d'être inoffensifs. Une déshydratation supérieure à 3% dans un environnement thermique neutre, ou supérieure à 2% dans un environnement chaud suffirait à altérer l'efficacité du travail aérobie de 5% (*Benamou-Smith 2003*). De même, une déshydratation supérieure à 5% provoque une baisse fréquente, mais non systématique, de la force musculaire (*Carlson 1994*).

✓ La thermorégulation induit des troubles électrolytiques

Contrairement à l'homme et à la majorité des autres espèces animales, la sueur du cheval est hypertonique (Tableau 5) (*Benamou-Smith 2003 ; Flaminio et al. 1996 ; Rose 1986 ; Smith 1985*).

Tableau 5 : Teneur en électrolytes de la sueur et du plasma chez l'homme et le cheval (*Benamou-Smith 2003*)

Concentration en mmol / l	Chez l'homme		Chez le cheval	
	Sueur	Plasma	Sueur	Plasma
Sodium	50	140	130 à 190	140
Chlore	35 à 40	100	160 à 190	100
Potassium	7	5	20 à 50	3,5 à 4,5
Calcium	4	2,5	5	2
Magnésium	1,5	1,5	16	0,8

- Pertes en Sodium : Les concentrations dans la sueur et le plasma sont équivalentes (*Flaminio et al. 1996 ; Langlois 2006 ; Smith 1985 ; Spooner et al. 2010*). Une transpiration abondante ne provoque donc que peu de modifications sanguines. En effet, en réponse à la déshydratation, des ions Na⁺ sont réabsorbés au niveau rénal contre des ions K⁺ des protons H⁺. Néanmoins, en cas de fortes pertes de Na⁺, l'homéostasie est perturbée et l'appareil circulatoire est affecté. On peut alors observer une diminution de la pression artérielle et une élévation du temps de réplétion capillaire et de la fréquence cardiaque (*Smith 1985*).

- Pertes en Potassium : La concentration dans la sueur est dix fois supérieure à celle dans le plasma (*Smith 1985*). Les pertes en K^+ par la transpiration sont donc très élevées. Par ailleurs, les mécanismes de récupération du Na^+ provoquent une hypokaliémie et une alcalose métabolique. De plus, pendant la course, du fait de l'élévation du taux de cortisol sanguin liée au stress, les pertes en K^+ par la sueur et l'urine sont accrues. Le taux de K^+ diminue d'abord dans le liquide extra-cellulaire, ce qui induit faiblesse, dépression, détérioration de la motilité intestinale, paralysie flasque des muscles squelettiques et hyperexcitabilité des nerfs longs (*Smith 1985*). Par ailleurs, l'hypokaliémie provoque une vasoconstriction musculaire à l'origine d'une hypo-perfusion et d'une mauvaise oxygénation des muscles (*Flaminio et al 1996*). Ensuite, le taux de K^+ diminue dans le liquide intra-cellulaire, ce qui a pour conséquence une altération des potentiels membranaires et une diminution du seuil d'excitabilité nerveuse, des arythmies et une irritabilité musculaire (*Smith 1985*).

- Pertes en Chlore : Les pertes en ions Cl^- dans la sueur correspondent à la somme des pertes en Na^+ et K^+ (*Smith 1985*). Il s'agit en temps normal du principal ion réabsorbé au niveau rénal. En son absence, ce sont les bicarbonates HCO_3^- qui sont réabsorbés. Cela explique que la concentration plasmatique en Cl^- varie comme celle du Na^+ et inversement à celle en HCO_3^- (*Colahan et al. 1999*). La conservation rénale de HCO_3^- vise à maintenir l'anion-gap (formule ci-dessous) dans les valeurs normales (*Forman 1998*). L'hypochlorémie est donc, avec l'hypokaliémie, la principale cause d'alcalose métabolique (*Rose 1986*).

$$\text{Anion-gap} = ([Na^+] + [K^+]) - ([Cl^-] + [HCO_3^-])$$

- Pertes en Calcium : La teneur en calcium dans la sueur est supérieure à celle du plasma. Le calcium sanguin est composé de 50% de calcium ionisé Ca^{2+} et de 50% de calcium lié à des protéines (*Smith 1985*). L'hypocalcémie due à une transpiration importante induit des modifications dans la diffusion du sodium dans les nerfs à l'origine d'une élévation de l'excitabilité nerveuse et donc de contractions musculaires involontaires (*Flaminio et al. 1996 ; Smith 1985*). Là aussi, le stress et l'augmentation du cortisol plasmatique accentuent les pertes en Ca^{2+} (*Smith 1985*).

- Pertes en Magnésium : Sa teneur dans la sueur est supérieure à celle du plasma (*Smith 1985*). En cas de transpiration abondante, l'hypomagnésémie

provoque une modification du potentiel de repos du système nerveux et une mauvaise régulation de l'acétylcholine, d'où un risque d'irritabilité neuromusculaire et parfois des spasmes et des tétanies musculaires (*Flaminio et al. 1996 ; Smith 1985*).

- Pertes en Phosphore : Sa concentration est faible dans la sueur (*Smith 1985*). Les répercussions sur les valeurs sanguines sont donc modérées. Au contraire, pendant l'exercice et avec la déshydratation, le taux plasmatique a plutôt tendance à augmenter du fait de la déphosphorylation de l'Adénosine Tri Phosphate (ATP) et de la Créatine Phosphate.

Ainsi, outre les pertes purement hydriques liées aux mécanismes de thermorégulation, des troubles électrolytiques non négligeables apparaissent fréquemment lors des épreuves d'endurance et sont à l'origine de nombreuses atteintes métaboliques.

✓ **La thermorégulation induit des troubles acido-basiques**

Le cheval d'endurance n'est que rarement exposé à l'acidose métabolique. En effet, le métabolisme aérobie associé à un effort modéré sur du long terme n'entraîne pas d'augmentation substantielle du taux d'acide lactique et n'induit donc pas de chute du pH (*Flaminio et al. 1996*). Les complications liées à l'accumulation de l'acide lactique risquent de survenir si les performances du cheval sont altérées (*Miranda et al. 2014 ; Smith 1985*), ou si sa capacité de travail aérobie est dépassée (lors d'un galop final par exemple) (*Langlois 2006 ; Miranda et al. 2014 ; Robert 2003*).

En revanche, du fait des mécanismes de thermorégulation, le cheval d'endurance est nettement plus exposé à l'alcalose, les composantes métabolique et respiratoire pouvant intervenir simultanément (*Foreman 1998 ; Smith 1985*).

- L'alcalose respiratoire : En réponse à la production de chaleur, l'augmentation de la post-charge cardiaque permet une augmentation du volume sanguin périphérique et une dissipation thermique cutanée (*Rose 1986 ; Smith 1985*). Lorsque ces phénomènes sont dépassés, les mécanismes de dissipation de la chaleur par la respiration sont enclenchés. On observe alors une polypnée et en conséquence une augmentation de la ventilation alvéolaire. Ces processus sont alors à l'origine d'une chute de la pression partielle en CO₂, puis d'une alcalose respiratoire (*Foreman 1998 ; Rose 1986 ; Smith 1985*).

- L'alcalose métabolique : Elle s'explique par les pertes en Na^+ et Cl^- par la transpiration. D'une part, en réponse au déficit en Na^+ , les reins excrètent des K^+ et des H^+ en échange de la réabsorption de Na^+ . D'autre part, consécutivement à l'hypochlorémie et pour maintenir l'anion-gap normal, les reins réabsorbent des HCO_3^- . Ces mécanismes induisent ainsi une alcalose métabolique et une acidurie paradoxale (Foreman 1998 ; Langlois 2006 ; Smith 1985). (Figure 6).

En conclusion, la transpiration et la polypnée thermique, principaux mécanismes responsables de dissipation de la chaleur excédentaire produite pendant l'effort, sont, bien qu'indispensables à la survie du cheval, responsables de déséquilibres hydro-électrolytiques et acido-basiques sévères. Ces derniers sont eux-mêmes responsables d'un grand nombre de troubles métaboliques caractéristiques du cheval d'endurance.

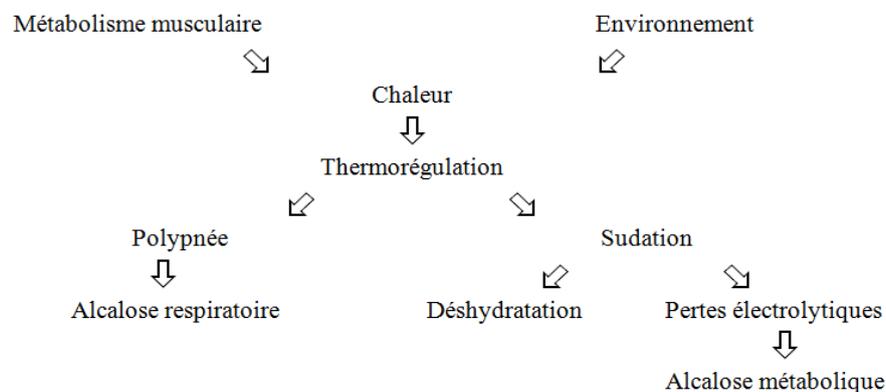


Figure 6 : Conséquences schématisées des mécanismes de thermorégulation (Benamou-Smith 2003).

2.Principaux facteurs influençant la performance du cheval d'endurance

2.1. Facteurs intrinsèques

2.1.1. Race

Les chevaux d'endurance doivent présenter des caractéristiques morphologiques et locomotrices leur permettant d'assurer des courses de longue durée. Chaque race présente des avantages et des inconvénients en fonction du type de course, de sa durée et des conditions climatiques (Ancelet 2014). En course d'endurance

sur la période 2003-2013, le pur-sang arabe représentait en moyenne 52,7% des 5 premiers classés, le demi-sang arabe 13,7% et l'anglo-arabe 8,9% de l'effectif total (Figure 7) (Buffet 2014).

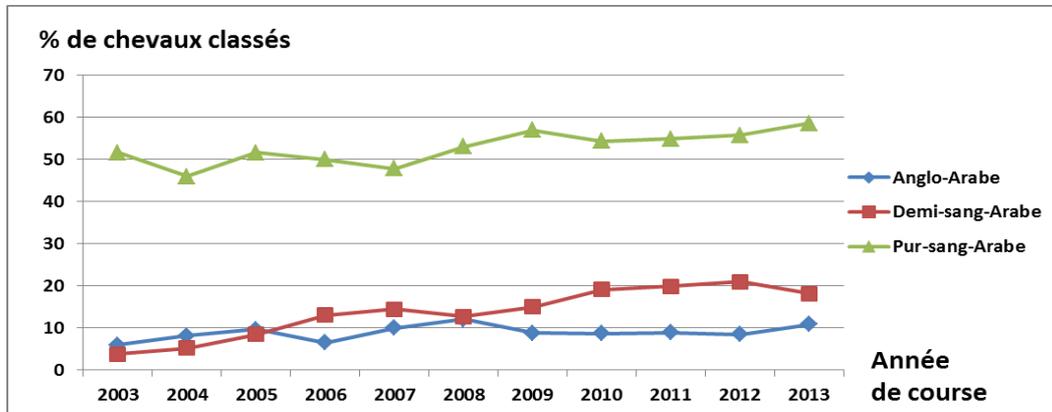


Figure 7 : Pourcentage de chevaux classés dans les 5 premières places par année chez les chevaux de race Arabe et de croisé Arabe (Buffet 2014 ; FEI 2014).

Une étude comparant trois races a montré que la capacité de travail aérobie des chevaux Andalous était significativement inférieure à celle des Pur-Sang Arabes et des Anglo-Arabes (Castejón et al. 1994 ; Castejón-Riber et al. 2012). La même étude (Castejón et al. 1994) a montré qu'à 15, 20 et 25 km/h, la quantité d'acide lactique produite pendant un exercice standardisé sur terrain était plus faible chez les Pur-Sang Arabes et les Anglo-Arabes que chez les Andalous.

Une autre étude de Prince et al en 2002 a comparé la performance de deux groupes de chevaux (cinq chevaux arabes vs. cinq chevaux de course) qui ont subi le même programme d'entraînement pendant 2 mois. A l'issue des différents tests d'effort sur tapis roulant, les chevaux de course ont présenté des valeurs de VO_{2max} et de vitesse de VO_{2max} plus élevées (154 ± 3 ml/kg/min à $12,9 \pm 0,5$ m/s) que les chevaux de race Arabe ($129 \pm 2,5$ ml/kg/min à $11,8 \pm 0,2$ m/s). Cependant le quotient respiratoire des chevaux de race Arabe est moins élevé entre 60 et 90 min d'effort à 35% de VO_{2max} . Ces résultats expliquent l'excellente capacité métabolique de la race arabe et du croisé arabe à utiliser les réserve lipidiques pendant les épreuves de longue durée et à se débarrasser plus rapidement des déchets métaboliques que les autres races. En outre, le pur-sang arabe possède une peau fine et un poil court qui facilitent la thermorégulation pendant l'effort (Galletier 2011 ; Loving et al. 2004 ; Snow et al. 1994).

Certes les chevaux Arabes et les croisés arabes sont les races les mieux adaptées aux épreuves d'endurance (*Galletier 2011 ; Snow et al. 1994*) mais d'autres facteurs (la génétique l'âge, la morphologie, l'entraînement...) interviennent aussi dans les courses d'endurance.

2.1.2. Génétique

La composante génétique chez le cheval d'endurance est un paramètre très pertinent qui explique la diversité des réponses physiologiques et des performances chez les différentes races des chevaux.

L'héritabilité (h^2) est le pourcentage du caractère qui peut être transmis par un reproducteur à sa descendance. Par définition, l'héritabilité est estimée par **$h^2 = \text{variance génétique} / \text{variance totale du caractère mesuré dans la population}$** . L'héritabilité varie donc entre 0 et 1. Si h^2 est inférieure à 0,2, l'héritabilité est considérée faible, si h^2 varie entre 0,21 et 0,4, l'héritabilité est moyenne et lorsque h^2 est supérieure à 0,4, l'héritabilité d'un caractère donné est élevée (*Bailey 2014*).

Chez l'homme, l'héritabilité de la fréquence cardiaque de récupération pendant un test d'effort sur tapis roulant est de 30 % (*Ingelsson et al. 2007*). Chez le cheval, environ 15 à 25% de la performance en concours hippique est d'origine héréditaire (*Ricard 1986, Tavernier 1992*), 25% en course de galop (*Langlois et al. 1996*) et 17 % à 26 % en course de Trot (*Bowling et Ruvinsky 2000*). D'autres études ont estimé l'héritabilité du temps de la course à 32 % chez les trotteurs (*Suontama et al. 2012*) et à 52 % chez les pur-sang (*Velie et al. 2014*). Au niveau cardiaque, l'héritabilité de la capacité cardiaque et du seuil anaérobie pendant un effort sous maximal chez les trotteurs français est respectivement de 0,46 et de 0,1 (*Barrey et al. 1998*). D'autre part, l'héritabilité de la V200 (vitesse à 200 bpm) et de la VLa4 (vitesse à 4 mmol de lactate) est respectivement de 0,46 et de 0,1 chez les trotteurs (*Barrey 2010*). La VLa4 semble être plus influencée par l'entraînement que V200 qui est très influencée par la génétique. Chez le cheval d'endurance, l'héritabilité de la vitesse de course et du classement est respectivement de 28 % et de 6 % sur des épreuves de 80 à 160 km (*Ricard et Touvais. 2007*). Le facteur génétique intervient donc dans la performance en épreuve d'endurance équestre. Une étude d'estimation de l'héritabilité de la vitesse et des paramètres cardiaques chez le cheval d'endurance sera présentée dans cette thèse afin d'expliquer sa part dans la performance.

2.1.3. Âge

Comme chez l'homme, la performance en sport équestre évolue avec l'âge du cheval (*Leleu et al. 2005 ; Stefánsdóttir et al. 2014 ; Vincen et al. 2006*). Une étude réalisée chez 149 trotteurs français a montré une amélioration de la performance entre 1 et 6 ans, qui se manifeste par une augmentation de la V200 et de la VLA4 (*Couroucé et al. 2002*). L'étude de *Betros et al. en 2002* réalisée chez 18 chevaux a montré une diminution de la FC maximale et de la VO₂max à l'effort en fonction de l'âge (entre 6 et 27 ans). Dans la littérature, peu d'études ont tenté d'évaluer l'effet de l'âge sur la performance du cheval d'endurance. Le cheval d'endurance ne peut pas commencer l'entraînement et les courses avant l'âge de 4 ans en raison de ses capacités physiques et physiologiques immatures à cet âge (*Snow et al. 1994*). En revanche, chez le cheval de course, l'entraînement précoce (à 2 ans) est associé à des bonnes performances ultérieures (*Tanner et al. 2013*). D'une façon générale, la performance du cheval d'endurance progresse de 4 à 12 ans puis décline vers l'âge de 14 à 16 ans (*Leclerc 1998*). Le pic de performance du cheval d'endurance est situé entre 9 et 12 ans en prenant en compte la vitesse et le classement sur les courses. (*Ancelet 2014 ; Ricard et Touvais 2005*). Généralement, les chevaux de moins de 12 ans se classent mieux et plus fréquemment que les chevaux de plus de 12 ans (*Castejón et al. 1994 ; Ricard et Touvais. 2005*). Cependant, les jeunes chevaux courent moins vite que les chevaux plus âgés (*FEI 2014*). Le vieillissement compromet la capacité à gérer la demande combinée de l'exercice et de la thermorégulation en partie à cause d'une diminution du volume plasmatique (PV) (*McKeever et al. 2010*). La diminution de la performance des vieux chevaux serait liée à une diminution de la thermorégulation pendant l'exercice physique (*McKeever et al. 2010*).

L'âge du cheval doit être pris en considération dans les programmes d'entraînement. Ainsi, l'expérience du cheval (en relation directe avec l'âge) et le niveau d'entraînement sont les deux facteurs déterminants de la performance du cheval d'endurance (*Leclerc 1998 ; Loving et al. 2004*).

2.1.4. Morphologie

Un bon cheval d'endurance doit présenter une morphologie adaptée à l'effort prolongé et cela sur plusieurs niveaux :

2.1.4.1. Poids et tissu adipeux

Le poids et la masse maigre sont corrélés avec la VO_2 max chez l'homme ainsi que chez le cheval (*Billat 2013 ; Kearns et al. 2002*). Cependant, l'excès du poids et de tissu adipeux sont deux facteurs limitants dans les épreuves d'endurance (*Lawrence et al. 1992*).

Une étude réalisée sur 61 chevaux sur une course de 150 miles, a démontré que les chevaux les plus performants étaient ceux qui avaient le plus faible pourcentage de tissu adipeux et un poids plus faible (*Lawrence et al. 1992*).

En effet, la masse grasseuse sous-cutanée forme une couche isolante qui ralentit les mécanismes de thermorégulation et accélère l'apparition des troubles métaboliques chez le cheval pendant l'effort (*Langlois 1994*). En revanche, une autre étude réalisée sur 360 chevaux sur des épreuves de 160 km a montré que les chevaux maigres (note d'état corporel inférieure à 3,5 sur 9 selon le système de notation de HENNEKE) sont éliminés pour cause métabolique (*Garlinghouse et al. 1999*). En effet le tissu adipeux est un véritable réservoir d'énergie stimulé pendant les épreuves de longue durée. (*Garlinghouse et al. 1999*).

Comme chez l'homme, un bon cheval d'endurance doit avoir un poids et une masse grasseuse équilibrés afin d'optimiser la dépense énergétique sur les courses d'endurance.

2.1.4.2. Taille et morphologie

Le cheval d'endurance issu de la race arabe, se distingue des autres chevaux par sa petite taille (entre 1,40 et 1,55 m) qui lui permet de se déplacer plus rapidement avec moins d'effort et de dépense énergétique (*Metayer et al. 2004 ; Snow et al. 1994*). Cependant, la taille doit être suffisante pour que la longueur de foulées ne devienne pas limitante pendant la course et que le cheval soit suffisamment porteur (*Metayer et al. 2004 ; Snow et al. 1994*). Les chevaux de petite taille présentent une surface corporelle relativement grande par rapport à leur poids ce qui facilite la thermorégulation pendant l'effort prolongé (*Loving et al. 2004 ; Rivero et al. 1991 ; Snow et al. 1994*).

Le cheval d'endurance présente une musculature longue et peu marquée au contraire des chevaux de course qui ont une masse musculaire très développée. (*Rivero et al. 1992 ; Weller et al. 2006*).

2.1.4.3. Peau et couleur de la robe

La peau et la couleur de la robe interviennent principalement dans les mécanismes de thermorégulation et l'évacuation de la chaleur pendant l'exercice. Le pur-sang arabe possède une peau fine et richement vascularisés ce qui facilite la perte de la chaleur par évaporation et réduit le temps de refroidissement (*Galletier 2011 ; Langlois 1994 ; Loving et al. 2004*). Cependant l'effet de la couleur de la robe sur la performance n'est pas si simple à démontrer. En effet, une étude réalisée sur 1103 chevaux de pur-sang et 796 de pur-sang arabe a montré qu'il n'y avait pas de différence significative entre la couleur de la robe et la performance en course de galop (*Strachurska et al. 2007*). Chez le cheval d'endurance, la couleur de la robe et la longueur du poil n'ont aucun effet sur les troubles métaboliques survenus pendant la course (*Langlois 2006*).

Chez d'autres espèces une relation significative a été démontrée entre la couleur noire et l'intolérance à la chaleur (*Acharya et al. 1995 ; Hillman et al. 2001 ; Hochscheid et al. 2002*). En effet, les pelages foncés absorbent plus les ondes courtes que les pelages clairs, ce qui augmente le gain de chaleur (*Finch et al. 1984, Hansen 2004*). Certains scientifiques admettent qu'une robe claire présente un avantage sur la performance par un gain de chaleur inférieur sur les courses d'endurance (*Langlois 1994 ; Loving et al. 2004*). Cependant, le gain de la chaleur dépend aussi des caractéristiques optiques et structurales de chaque poil du pelage. Par ailleurs, chez deux animaux de même couleur, une différence de 40% de gain de chaleur a été observée (*Walsberg 1983*).

L'effet de couleur de la robe sur la performance des chevaux reste un sujet de discussion puisque à ce jour aucune étude n'a montré une relation entre la performance et la couleur de la robe.

2.2. Facteurs extrinsèques

2.2.1. Entraînement

Un entraînement spécifique est indispensable pour développer les capacités mentales et physiques du cheval d'endurance (Leclerc 1998). Un bon cheval d'endurance doit avoir un mental fort et la volonté de parcourir de longues distances sans s'arrêter. L'entraînement apprend à limiter le stress qui est un grand consommateur d'énergie et qui perturbe les mécanismes physiologiques avant et pendant la course (Leclerc 1998, 2007).

La réponse physiologique à l'entraînement d'endurance est bien documentée chez l'homme mais peu d'études ont été réalisées chez le cheval d'endurance. L'adaptation physiologique à l'entraînement dépend principalement de la durée de l'exercice, de l'intensité, de la fréquence des séances d'entraînement, du potentiel génétique et aussi du niveau d'entraînement initial.

Il existe cinq principaux critères d'adaptation physiologique à l'entraînement d'endurance qui sont en relation directe avec la performance aérobie chez l'homme comme chez le cheval.

2.2.1.1. Consommation maximale d'oxygène ($VO_2\text{max}$)

La $VO_2\text{max}$ correspond à la puissance maximale du métabolisme aérobie. Elle a été associée depuis longtemps avec la performance dans les épreuves d'endurance (Costill et al. 1976 ; Saltin et Astrand 1967).

Comme nous l'avons expliqué auparavant, la $VO_2\text{max}$ est en relation directe avec le débit cardiaque (QC) et la différence artério-veineuse en oxygène (DAV O_2) selon l'équation de Fick ($VO_2 = QC \cdot (DAV)$).

De nombreuses études, ont montré l'efficacité de l'entraînement en endurance pour améliorer la $VO_2\text{max}$ chez l'homme (Billat et al. 1999 ; Rosenkilde et al. 2013). Une étude réalisée sur 16 jeunes garçons de niveau physique moyen qui ont effectué un entraînement de 3 à 5 sessions par semaine pendant 20 à 30 minutes à une vitesse au seuil lactique, a montré une amélioration de 10% de $VO_2\text{max}$ (Carter et al. 1999). D'autres études suggèrent qu'un entraînement à haute intensité (de 80 à 100% de $VO_2\text{max}$) peut conduire à des augmentations plus importantes de $VO_2\text{max}$ qu'un entraînement de faible intensité (Billat et al. 2000 ; Esfarjani et Laursen. 2007 ; Smith et al. 2003). D'autres travaux (Billat et

al. 1999 ; Hickson et al. 1981) ont montré une amélioration de 14% de $VO_2\text{max}$ après seulement 3 semaines d'entraînement à des vitesses sous maximales. Une partie de cette amélioration a été attribuée à une augmentation du débit cardiaque et de la tolérance au stress thermique pendant l'exercice physique (*Green et al. 1991*).

Actuellement, peu d'études ont mesuré la consommation d'oxygène chez le cheval d'endurance (*Castejón-Riber et al. 2012 ; Cottin et al. 2010*). De nombreuses études ont été effectuées chez le cheval de course. *Harkins et al. en 1993* ont montré que la $VO_2\text{max}$ est corrélée avec la vitesse de course sur 2000 m chez des pur-sang. Une autre étude réalisée sur des chevaux de course a montré que 6 semaines d'entraînement (trois semaines d'entraînement en aérobie plus trois semaines d'entraînement en anaérobie) provoquent une augmentation significative de la $VO_2\text{max}$ sans aucune modification observée au niveau de la ventilation respiratoire. L'augmentation de $VO_2\text{max}$ a été attribuée à des améliorations du système cardiovasculaire et des changements hématologiques (*Art et Lekeux. 1993 ; Evans et Rose. 1987*). Une autre étude (*Kitaoka et al. 2011*) réalisée chez des pur-sang a montré qu'après 18 semaines d'entraînement (cinq séances par semaine entre 90%-110% de la vitesse de $VO_2\text{max}$ pendant 3 min) on note une amélioration significative de $VO_2\text{max}$ avec une diminution de la lactatémie à différentes vitesses. D'autre part, l'étude de *Mukai et al. en 2006* a montré une amélioration significative de la $VO_2\text{max}$ et de VES chez des jeunes chevaux de course après 6 mois d'entraînement à raison de 6 séances par semaine. Cependant, après 10 semaines de désentraînement une baisse de $VO_2\text{max}$ et de VES a été observée avec une augmentation de 8,3% du poids des chevaux.

D'après les études existantes, la vitesse d'augmentation de $VO_2\text{max}$ après une période d'entraînement semble plus rapide chez le cheval que chez l'homme mais cette amélioration ($VO_2\text{max}$) se perd rapidement après seulement 2 à 3 semaines de désentraînement (*Art et Lekeux. 1993*).

2.2.1.2. Coût énergétique

Le coût énergétique (CE) est défini comme la quantité d' O_2 dépensé pour une intensité d'effort donnée (*Billat et al. 2001 ; Goachet et al. 2014*). Sur des épreuves de longue durée comme le marathon, le CE joue un rôle primordial sur la performance (*Billat et al. 2001*). En effet, pendant les épreuves d'endurance

l'apparition de la fatigue est liée principalement à la déplétion des stocks de glycogène musculaire (*Billat et al. 2001 ; Kenney 2009*). En marathon les meilleurs athlètes (performance < 2h11) ont un CE plus faible que les moins bons (performance < 2h16) (*Billat et al. 2001*). Une étude réalisée sur 16 sujets a montré une diminution du coût énergétique de 3 ml/min/kg après 6 semaines d'entraînement en endurance à 12 km/h (*Jones et al. 1999*). En effet, l'entraînement en endurance réduit la vitesse de déplétion glycogénique (*Green et al. 1995*) et augmente la vitesse de dégradation des triglycérides intramusculaires (*Martin et al. 1993*). Pour une même intensité d'effort, l'entraînement en endurance diminue la contribution des glucides pour la synthèse d'ATP et favorise la dégradation des lipides, ce qui augmente le temps de maintien de l'effort (*Kiens et al. 1993*). Une amélioration de l'efficacité de la digestion a été observée chez des chevaux d'endurance après cinq semaines d'entraînement à faible intensité (*Goachet et al. 2014a*).

Pendant une épreuve d'endurance de 160 km le CE estimé chez deux chevaux d'endurance à l'aide d'un analyseur de gaz (K4b2) est de 177 MJ et 240 MJ pour des FC moyennes de 108 bpm et 124 bpm, respectivement (*Goachet et al. 2014b*).

Les épreuves d'endurance nécessitent une grande dépense énergétique (glucide, lipide et protéine) qui peut conduire à des troubles métaboliques pour certains chevaux. Le CE est en relation directe avec la consommation d'oxygène. D'après les études évoquées dans la partie précédente (*Billat et al. 2010 ; Kitaoka et al. 2011 ; Mukai et al. 2006*) l'entraînement provoque en général une augmentation de la $VO_2\text{max}$ et de la vitesse à $VO_2\text{max}$ ce qui s'explique par une baisse de la dépense énergétique pour un même exercice réalisé avant l'entraînement. Le coût énergétique a été associé aussi à des facteurs anthropométriques, biomécaniques et techniques sur les courses (*Bailey et Pate. 1991*).

2.2.1.3. Adaptation musculaire et métabolique à l'entraînement

Plusieurs études (*Green et al. 1995 ; Moritani et al. 1993 ; Rivero et al. 2006 ; Suter et al. 1995 ; Te Pas et al. 2013 ; Votion et al. 2012 ; Zhou et al. 1995*) ont montré que l'entraînement en endurance provoque de multiples adaptations musculaires chez l'homme et chez le cheval :

- Une hypertrophie des fibres musculaires de type I ;
- Des transformations des fibres IIb vers les IIa puis vers les I ;

- Une augmentation du nombre de pompes sodium-potassium dans la cellule musculaire ;
- Une augmentation de la capacité de transport du lactate entre les fibres rapides et oxydatives ;
- Une augmentation du nombre et de la taille des mitochondries qui se traduit par une meilleure capacité oxydative des fibres musculaires.

L'étude de *Rivero et al en 2007* réalisée sur 36 chevaux d'endurance a montré que la composition et la taille des fibres musculaires sont en relation directe avec la performance. Les meilleurs chevaux sur les épreuves d'endurance présentent des pourcentages élevés de fibres de type I et IIa (*Rivero et al. 2007*). D'autres études (*Gaitanos et al. 1993 ; Rodas et al. 2000 ; Smarsh et Williams. 2014*) ont montré que l'entraînement à haute intensité peut conduire à une amélioration de la capacité aérobie et une réduction du stress oxydatif. Chez le cheval de course, l'entraînement à des intensités élevées, conduit à des augmentations de la capacité glycolytique (Citratesynthase) et de l'expression des protéines de MCT1 et MCT4 dans les muscles (*Kitaoka et al. 2011*). Provoque également une augmentation de la capacité d'oxydation musculaire et une capacité accrue pour l'utilisation des lipides en tant que source d'énergie (*Davie et al. 2014 ; Kitaoka et al. 2011 ; Li et al. 2012 ; Votion et al. 2010*).

D'autre part, l'entraînement à base d'exercices intermittents, augmente l'activité enzymatique aérobie et anaérobie chez l'homme (Citratesynthase : CS, Créatine kinase : CK, Phosphofructo kinase : PFK, lactate déshydrogénase : LDH, 3-Hydroxyacyl-CoA déshydrogénase : HADH). L'amélioration de l'activité enzymatique a des limites et dépend principalement du niveau physique des sujets (*Costill et al. 1976*). Cependant, chez des sujets très entraînés le même type d'entraînement intermittent ne provoque aucune amélioration de l'activité enzymatique (*Weston et al. 1997*).

L'intensité et la durée de l'entraînement sont deux paramètres qui déterminent le type d'adaptation musculaire après une période d'entraînement. En général, l'entraînement à haute intensité provoque une hypertrophie et une augmentation de la force musculaire et l'entraînement de longue durée et de faible intensité augmente la capacité oxydative des muscles (*Gaitanos et al. 1993 ; Moritani et al. 1993 ; Rivero et al. 2007 ; Rodas et al. 2000 ; Suter et al. 1995*).

2.2.1.4. Lactatémie

La lactatémie est un indicateur fiable de la condition physique des sujets et de la réussite d'un programme d'entraînement (*Gondim et al. 2007 ; Jones et Doust. 1998 ; Miranda et al. 2014 ; Munsters et al. 2014b*). L'augmentation de lactatémie pendant l'effort est due à l'utilisation des sucres en mode anaérobie (*Billat 2013 ; Gondim et al. 2007 ; Sahlin 1992*). En physiologie de l'exercice, plusieurs seuils lactiques ont été définis comme des indicateurs de la performance physique des sujets. Parmi ces indices, le MLSS (Maximal Lactate Steady State) qui est la plus haute intensité à laquelle le lactate reste stable (*Beneke et Duvillard. 1996 ; Miranda et al. 2014*) et la VLA4. Chez le cheval, la VLA4 est utilisée comme un paramètre de référence de la capacité aérobie (*Leleu et al. 2005 ; Lindner et al. 2009 ; Munsters et al. 2014a*) et un indicateur fiable de niveau d'entraînement (*Gondim et al. 2007 ; Miranda et al. 2014*). Ainsi, *Fraipont et al en 2012* ont montré que les chevaux participants à des courses de 120 km et plus ont des valeurs supérieures de VLA4 par rapport aux chevaux de niveau inférieur. Le cheval d'endurance de niveau international, a une VLA4 supérieure à 30 km/h (vitesse moyenne des courses d'endurance = 20 km/h) (*Demonceau 1990*). Ceci a été confirmé par l'étude de *Cottin et al en 2010* qui a montré que le cheval d'endurance (Race Arabe) a un QR inférieur à 1 à des vitesses moyennes de course de 20 km/h.

L'entraînement a pour effet de retarder l'accumulation du lactate et d'augmenter la VLA4 (*Assenza et al. 2013 ; Couroucé 2006 ; Miranda et al. 2014 ; Munsters et al. 2014a, 2014b*) (Figure 8).

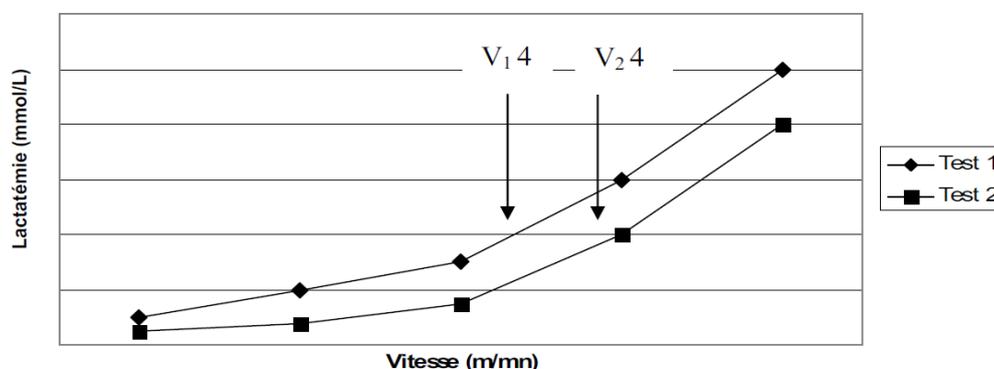


Figure 8 : Effet de l'entraînement sur la VL4. Test 1 : avant l'entraînement, test 2 : après l'entraînement (*Couroucé 2006*)

Chez l'homme, l'étude de *Carter et al en 1999* a montré une augmentation de la vitesse au MLSS après 6 semaines d'entraînement en endurance. Au contraire du cheval d'endurance, chez les marathoniens la vitesse au seuil anaérobie est proche des vitesses moyennes sur les courses (*Sjodin et Jacobs 1981*).

De même une étude récente a montré que le MLSS des chevaux de pur-sang ne dépasse pas les 2 mmol/l, valeur inférieure à celle de l'homme (environ 4 mmol/l) (*Lindner 2010*). L'athlète humain serait plus exposé à l'accumulation du lactate que le cheval d'endurance pendant les exercices de longue durée (*Miranda et al. 2014*).

L'entraînement en endurance retarde l'accumulation des lactates par augmentation de la consommation d'O₂ et de la vitesse de recyclage des lactates par les fibres oxydatives (*Freund et al. 1992 ; Ivy et al. 1980 ; Miranda et al. 2014 ; Sahlin 1992*).

Le MLSS et la VLA4 sont des paramètres utiles et fiables pour le suivi du cheval d'endurance (*Miranda et al. 2014 ; Valette et al. 1993*). Cependant en endurance équestre, l'acidose métabolique est rare et ne constitue pas un facteur limitant sur les courses (*Miranda et al. 2014 ; Munsters et al. 2014a*).

2.2.1.5. Adaptation cardiorespiratoire à l'entraînement

L'entraînement en endurance provoque des adaptations remarquables du système cardiorespiratoire qui se manifestent par :

- une réduction de la FC et de la ventilation (VE) pour une même intensité d'effort (*Franch et al. 1998*) ;
- une augmentation significative des capacités et des volumes respiratoires (*Franch et al. 1998 ; Khosravi et al. 2013 ; Young et al. 2002*) ;
- une diminution de la sensibilité aux catécholamines et une réduction de l'activité sympathique (*Spina 1999*) ;
- une augmentation du volume d'éjection systolique (VES) (*Spina 1999 ; Young 1999*).

L'étude de *Sleeper et al. en 2014* réalisée chez le cheval d'endurance a montré que la taille du cœur est significativement associée à la performance en course. En effet, les chevaux entraînés présentent un VES et un volume de remplissage plus élevés que chez les non entraînés du fait du diamètre important du

ventricule gauche (Young 1999). Une relation significative a été démontrée entre la taille du ventricule gauche et la VO₂max chez des pur-sang (Young et al. 2002). D'autres études réalisées chez des jeunes chevaux de course (Kobayashi et al. 1999) et des trotteurs français (Couroucé et al. 2002), ont montré une augmentation de la V200 après une période d'entraînement. La V200 a été corrélée avec le niveau physique et la distance de course chez le cheval d'endurance (Fraipont et al. 2012). Une période d'entraînement en aérobie pendant 90 jours à 60% de FC maximale (FCmax), provoque une baisse de la pression systolique et du travail cardiaque chez 9 chevaux d'endurance (Mirian et al. 2014).

Une autre étude réalisée sur 328 chevaux de différentes catégories d'âge et de races différentes a montré que la FC max diminue chez les moins entraînés (Vincen et al. 2006) et augmente avec l'entraînement (Eaton et al. 1999). Cependant d'autres études (Betros et al. 2002 ; Seeherman et Morris. 1991) ont montré que l'entraînement ne provoque aucun effet sur la FC max chez des chevaux de différentes catégories d'âge.

Chez l'homme, plusieurs études (Al-Hazzaa et Chukwuemeka 2001 ; Osborne et al. 1992) ont montré l'existence d'une relation significative entre la performance et la taille du cœur. Chez 13 personnes âgées (60-80 ans) et 13 jeunes (24-32 ans), une baisse de la FC de repos respectivement de 9 bpm et 5 bpm a été observée après six mois d'entraînement à l'endurance. Cette bradycardie a été expliquée par une augmentation du tonus vagal du cœur (Levy et al. 1998).

L'entraînement en général provoque des améliorations du fonctionnement des systèmes de l'organisme. Ces adaptations sont indispensables pour être performant en course. Le mental pourrait aussi jouer un rôle essentiel dans l'optimisation de la performance mais très peu de méthodes sont disponibles pour l'évaluer, en particulier chez le cheval.

2.2.2. Cavalier

Sur les épreuves d'endurance, le cavalier joue un rôle crucial pour que la course se déroule dans les meilleures conditions. Plusieurs études (Marqués et al. 2014 ; Peham et al. 2001 ; Viry et al. 2013, 2014 ; Wolframm et al. 2013) ont mesuré l'interaction et la coordination entre le couple cavalier-cheval dans différentes situations sur terrain. La coordination entre cheval et cavalier varie en fonction

de la technique utilisée par le cavalier (*Viry et al. 2013*). Elle est plus élevée au galop qu'au trot pendant des courses d'endurance de niveau international (*Viry et al. 2013*). La synchronisation entre le cavalier et le cheval est plus élevée chez les cavaliers expérimentés que chez les moins expérimentés (*Lagarde et al. 2005*). Ainsi, *Peham et al. en 2004* ont montré que les cavaliers qualifiés sur les courses, sont capables de stabiliser la vitesse de leurs chevaux sur tapis roulant. D'autre part, l'étude de *Viry et al en 2014* a montré que les couples élites cavalier-cheval ont une vitesse moyenne plus élevée que les moins expérimentés sur les courses d'endurance. Cette coordination entre cheval-cavalier peut être un outil fiable pour détecter les signes de fatigue sur les épreuves d'endurance (*Viry et al. 2014*).

Le poids du cavalier est aussi un facteur à prendre en compte, puisque la consommation d'oxygène augmente proportionnellement avec le poids à porter. Ainsi chez un cheval placé sur tapis à 7,2 m/s et portant une charge équivalant à 10% de son poids corporel, on observe une augmentation de la VO_2 (de 24,4 à 28 l/min) mais pas une différence significative dans le coût de l'exercice en oxygène (de 53 à 55 ml/kg/min). L'augmentation de VO_2 due au poids apparaît compensée par une augmentation de la ventilation (*Thornton et al. 1987*). On peut ainsi considérer qu'un cheval de 450 kg portant un cavalier de 50 kg dépense presque la même énergie qu'un cheval de 500 kg (*Eaton et al. 1995*). Une autre étude (*Fonseca et al. 2010*) réalisé sur 102 chevaux de course a montré que la vitesse des chevaux est plus influencée par le jockey que par l'entraînement. En effet, le contact cavalier-cheval est un véritable moyen de communication (*Lagarde et al. 2005 ; Wolframm et al. 2013*). Sur les épreuves d'endurance à vitesse libre, l'effet du poids du cavalier est en partie compensé par les dispositions règlementaires : il y a un poids minimal imposé de 70 à 75 kg pour l'ensemble cavalier-harnachement selon le niveau d'épreuve. Afin d'optimiser la performance du cheval d'endurance, le cavalier doit un bon niveau équestre et entretenir sa forme physique afin de garder une bonne coordination avec son cheval le long du parcours.

2.2.3. Conditions météorologiques et profil de course

Les conditions météorologiques ont un impact direct sur les performances et le risque d'élimination dans les épreuves de longue durée (*McCutcheon et Geor. 2010 ; Nagy et al. 2014*). Sur une course d'endurance à des températures

élevées, les chevaux peuvent perdre de 10 à 15 litres de sueur par heure (*Flaminio et Rush. 1998*). Cette perte liquidienne dans des conditions chaudes et humides altère les mécanismes de thermorégulation et provoque un déséquilibre électrolytique ce qui favorise le risque d'élimination pour des raisons métaboliques (*Robert et al. 2010*). Cependant, plusieurs études réalisées chez l'homme et chez le cheval (*Armstrong et Maresh. 1991 ; McCutcheon et Geor. 2010*) ont montré que l'entraînement dans un environnement frais améliore les réponses physiologiques à l'exercice (VO_2 max, FC, thermorégulations) dans des températures plus élevées. Une autre étude réalisée chez des trotteurs a montré que les conditions chaudes et humides provoquent une augmentation remarquable de la FC, de la fréquence respiratoire (FR) et de la température rectale des chevaux. Cependant après une période d'acclimatation de 3 semaines dans ces conditions difficiles, une réduction progressive des paramètres cardiorespiratoires (FC et FR) a été observée (*Geor et al. 1996*). En effet, les chevaux ont acquis une certaine tolérance au stress thermique et une adaptation physiologique aux conditions difficiles pendant l'exercice (*Geor et al. 1996*). Donc, il est recommandé d'entraîner les chevaux à des températures similaires aux lieux de courses afin d'améliorer leurs mécanismes de thermorégulation et leur performance physique le jour de compétition (*Geor et McCutcheon. 1998 ; Marlin et al. 2001 ; Robert et al. 2010*).

En plus des conditions météorologiques, le type de terrain influence aussi la performance du cheval. Plusieurs mesures sur différents types de terrain ont été effectuées pour mesurer leur impact sur la performance du cheval au trot (*Barrey et al. 1991 ; Setterbo et al. 2009*), et au galop (*Ratzlaff et al. 1997 ; Robin et al. 2009*). L'accroissement de l'inclinaison du terrain de course ou de la pente du tapis roulant (6°) provoque une augmentation de la dépense énergétique et des paramètres cardiorespiratoires (FC, QC, VO_2) (*McDonough et al. 2002*).

Pour lutter contre les troubles métaboliques rencontrés sur les épreuves d'endurance, le cheval doit avoir une préparation physique optimale et une bonne hydratation surtout lors de conditions météorologiques difficiles. Des substances médicamenteuses interdites par la FEI sont administrées par certaines équipes afin de masquer les désordres cliniques lors des contrôles

vétérinaires. Ces fraudes représentent un véritable défi pour préserver la santé des chevaux. Ceci nous entraîne à parler du dopage

2.2.4. Médication et dopage

Les règlements sportifs interdisent toute utilisation volontaire ou non des substances dopantes. Toute entorse à cette règle constitue un non-respect du principe d'égalité des chances et, par conséquent, de l'éthique sportive (FEI 2015). Par ailleurs, la consommation de substances améliorant les performances peut mettre la santé en danger.

Le contrôle de médication consiste à faire analyser par des laboratoires spécialisés des prélèvements d'urine - ou de sang afin de dépister les substances interdites. La nature du médicament et la dose ingérée déterminent le temps pendant lequel la substance pharmacologique sera décelable dans l'urine ou le sang (*England et al. 1992*). Certains médicaments deviennent indécelables au bout de quelques heures, d'autres après plusieurs mois.

Selon le rapport de contrôle antidopage en 2010 de la FEI, le nombre des chevaux contrôlés entre l'année 2000 et 2010 a augmenté plus que 3 fois.

Les molécules dopantes utilisées en sports équestres peuvent être classées en quatre catégories :

1. Les dopants majeurs : sont des molécules administrées au cheval dans le but d'augmenter ses performances et qui ne sont pas utilisées en thérapeutique classique.

Exemple : Les stéroïdes anabolisants naturels (la testostérone, la nandrolone) ou synthèse (le stanozolol ou la boldénone)...

2. Les résidus de molécules thérapeutiques : sont des résidus des traitements médicaux utilisés pour des raisons thérapeutiques avant les périodes de compétition.

Une enquête est alors menée pour déterminer si la molécule retrouvée dans l'échantillon est bien le résidu d'un traitement ou l'administration d'une molécule à des fins de dopage.

3. Les contaminants alimentaires : Certaines molécules considérées comme substances dopantes peuvent être trouvées dans les aliments industriels. Parmi ces molécules, les cosses de cacao qui ont une teneur élevée en caféine et en théobromine. D'autres plantes comme le pavot qui contient des substances

morphiniques (alcaloïdes) ou encore des substances à base d'atropine et de scopolamine retrouvés dans les plantes de la famille des Daturas.

4. Les substances avec un seuil toléré : sont des substances naturelles qu'on trouve chez le cheval. Par exemple, les hormones (les androgènes, testostérone, cortisol) ou des substances alimentaires (l'acide salicylique ou la théobromine). Ces substances sont tolérées jusqu'à un certain seuil.

En endurance équestre toutes les substances médicamenteuses sont interdites avant ou pendant la course (FEI 2014). Les substances utilisées en endurance équestre sont généralement des anti-inflammatoires (stéroïdiens ou non), des tranquillisants et des anabolisants. Cependant, des substances bradycardisantes sont susceptibles d'être utilisées sur les courses pour baisser artificiellement la FC de récupération lors des contrôles vétérinaires.

Une partie de cette thèse sera consacrée à déterminer les effets des Alpha-2-agonistes (A2A) et des bêtabloquants (BB) sur la VFC chez le cheval. L'idée est de mettre en évidence et de caractériser les modifications de la VFC chez les chevaux traités par rapport aux contrôles. A terme, la mesure de la VFC pourrait être utilisée comme méthode indirecte et non invasive de détection de l'administration de BB et pour orienter les prélèvements de contrôles de médication.

2.2.4.1. Les bêtabloquants et les alpha-2-agonistes

Les bêtabloquants (BB)

Un bêtabloquant est un médicament utilisé en cardiologie ; il bloque l'action des médiateurs du système adrénergique tels que l'adrénaline et provoquent une diminution de la FC. Les BB sont de deux types :

- les BB cardio-sélectifs, (Atenolol, Bisoprolol, ...) qui bloquent préférentiellement les récepteurs β -1 que l'on trouve principalement au niveau cardiaque avec un effet modéré sur les récepteurs β -2 dont l'activation stimule naturellement la relaxation des fibres musculaires lisses des vaisseaux et des bronches, et provoque peu de broncho constriction (Figure 9).

-Les BB non cardio-sélectifs (Propranolol, Timolol, ...), bloquent les récepteurs β 1-cardiaques et les récepteurs β 2-extracardiaques et peuvent entraîner une

broncho constriction, une vasoconstriction, une augmentation des sécrétions, du péristaltisme digestif et des perturbations métaboliques.

Les BB diminuent la consommation en oxygène du myocarde par leurs effets inotrope et chronotrope négatifs et améliorent les apports en oxygène au niveau des zones sous-endocardiques.

Chez le cheval, l'effet bradycardisant des BB au repos et à l'exercice est bien documenté (*Hada et al. 2006 ; Ohmura et al. 2001*). À forte dose, les BB provoquent des arrêts cardiaques par bradycardie excessive et peuvent conduire à la mort du cheval sur la course.

En plus de leur effet bradycardisant (chronotrope négatif), les BB ont un effet antistress très appréciable surtout en pré compétition et permettent d'éviter la tension nerveuse et le gaspillage d'énergie en début de course.

Chez l'homme, l'administration d'une dose de 0,2 mg/kg de chlorhydrate de propranolol par voie IV diminue les fréquences cardiaque et respiratoire respectivement de 17% et 9,6%. (*Brown et al. 1976*).

Chez d'autres espèces (le rat et le chien) l'injection d'aténolol par voie intraveineuse provoque une baisse remarquable de la FC et de la pression artérielle (*Pearson et al. 1989*).

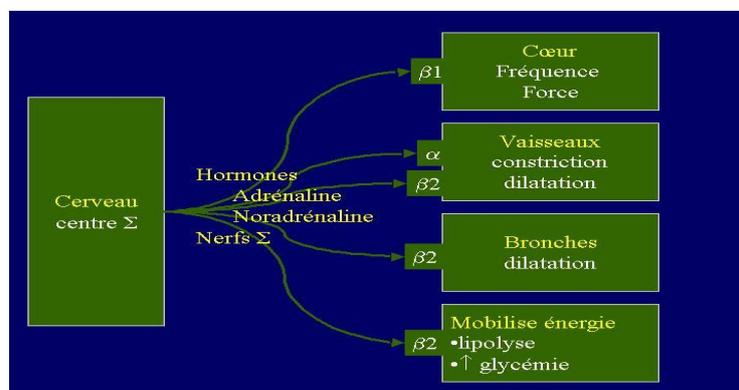


Figure 9 : Rôle des récepteurs α et β dans la régulation cardiovasculaire (*Forest et al. 2007*).

Les alpha-2-agonistes (A2A)

Les A2A agissent sur les récepteurs adrénergiques α_2 localisés dans le système nerveux central et le cœur (Figure 9). Ils diminuent la libération de noradrénaline

et provoque une inhibition du système nerveux sympathique qui provoque une bradycardie. Les A2A agissent également sur les récepteurs adrénergiques α_1 , ce qui provoque une vasoconstriction périphérique et une hypertension (*Yamashita et al. 2000*).

Les A2A les plus utilisés chez le cheval sont : la xylazine, la romofidine et la détomidine. Nous allons étudier seulement la détomidine qui a fait l'objet d'une étude expérimentale dans le cadre de cette thèse.

Chez le cheval, la détomidine est utilisée à la dose de 20 à 40 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ par voie intramusculaire ou intraveineuse, et à la dose de 60 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ par voie orale.

L'étude de *Dimaio Knych et Stanley en 2011* a montré qu'après 40 min d'administration d'une dose de 0,04 mg/kg de gel de Détomidine sous la langue chez 12 chevaux, on observe une diminution de la FC de l'ordre de 10 bpm avec une sédation remarquable qui dure 2 heures.

D'autres études prouvent que l'administration de 0,02mg/kg de détomidine par voie intra veineuse provoque une bradycardie de l'ordre de 10 bpm, cependant l'augmentation de la concentration de détomidine à 0,03mg/kg conduit à une diminution plus remarquable (18 bpm) (*Elfenbein et al. 2009 ; Mama et al. 2009*).

Parmi ces effets secondaires, la détomidine provoque une dépression cardio-respiratoire importante à l'origine d'une bradycardie sinusale, de blocs atrio-ventriculaires et d'une bradypnée (*Giorgi et al. 2007*).

L'administration des substances dopantes en général peut mettre en jeu la santé du cheval à plusieurs niveaux :

- Risque d'épuisement et d'accident : l'utilisation de certaines substances stimulantes peut conduire à l'épuisement général suite à un effort qui est supérieur à la capacité du cheval. Cela provoque l'apparition de séquelles graves ou jusqu'à la mort de l'animal.
- Risque d'aggravation d'une lésion préexistante : l'utilisation des substances anti-inflammatoires par exemple pour masquer la douleur peut conduire à de graves accidents articulaires sur les courses.
- Effets indésirables à court ou long terme : ulcère gastrique, troubles de la reproduction ...) (*AFLD 2012*).

Enfin, sur le plan éthique, le dopage nuit gravement à l'image des sports équestres et ne respecte pas la loi du fair-play qui constitue la base de toutes les disciplines sportives.

3. Physiologie cardiorespiratoire chez le cheval.

3.1. Fonctionnement du système cardiorespiratoire

3.1.1. Anatomie et physiologie cardiaque

Le cœur du cheval est très comparable à celui de l'homme (Figure 10) (*Barone 1996*). Il est formé de deux types de tissus :

- ✓ Le myocarde : c'est la partie contractile du cœur, responsable de l'action du pompage du sang vers l'organisme. Le myocarde est formé par des cellules cardiaques appelées cardiocytes qui ont un fonctionnement très proche des fibres musculaires squelettiques. L'épaisseur du myocarde indique la force d'éjection du sang lors de la systole ventriculaire.
- ✓ Le tissu cardionecteur : c'est le système de conduction de l'influx électrique à travers le cœur qui est responsable des contractions rythmiques du cœur.

Les quatre structures impliquées dans la constitution du tissu cardionecteur sont par ordre chronologique de mise en jeu :

- Le nœud sino-atrial ou sinusal : c'est le pace-maker du cœur qui donne l'impulsion initiale de l'influx électrique à une fréquence d'environ 100 bpm chez l'homme.
- Le nœud atrio-ventriculaire : assure la transmission du signal électrique des oreillettes aux ventricules avec un ralentissement de l'influx électrique (frein nodal) avant son arrivée dans le myocarde.
- Le faisceau de His : se divise en deux branches, une droite et une gauche, qui innervent respectivement les deux ventricules.
- Le réseau de Purkinje : ce sont des ramifications des deux branches de faisceau de His qui assurent une transmission très rapide et homogène du signal électrique à l'ensemble des cellules myocardiques des ventricules

Les cellules des nœuds sont constituées de myocytes dotées d'une capacité de dépolarisation spontanée lente de type « pace-maker » grâce à des canaux ioniques particuliers et un potentiel de repos instable (figure 11). Le potentiel d'action (PA) automatique est dû à une ouverture spontanée des canaux à

sodium, ce qui dépolarise les myocytes du tissu nodal jusqu'au seuil d'activation. Au contraire, dans les myocytes myocardiques la dépolarisation n'est pas spontanée mais rapide grâce aux canaux sodiques voltage-dépendant. Ces cellules automatisées sont à l'origine des contractions spontanées de la pompe cardiaque.

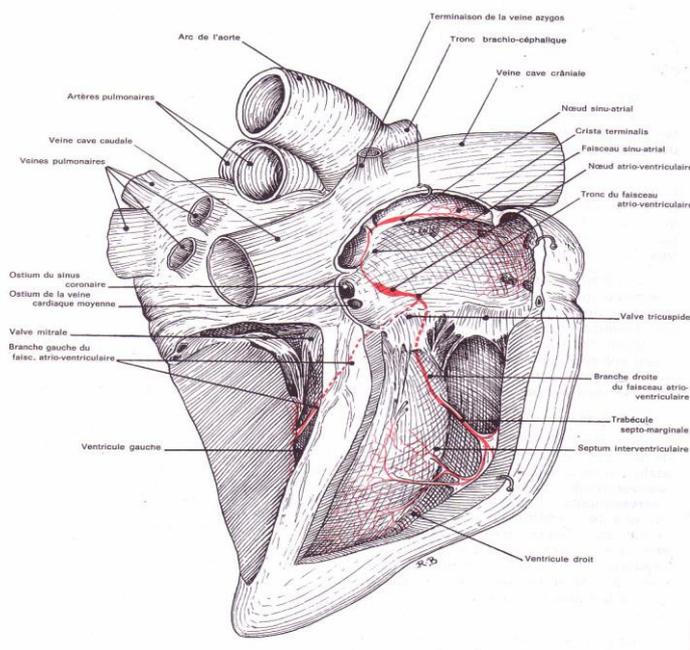


Figure 10 : Topographie du tissu nodal chez le cheval - (Barone 1996).

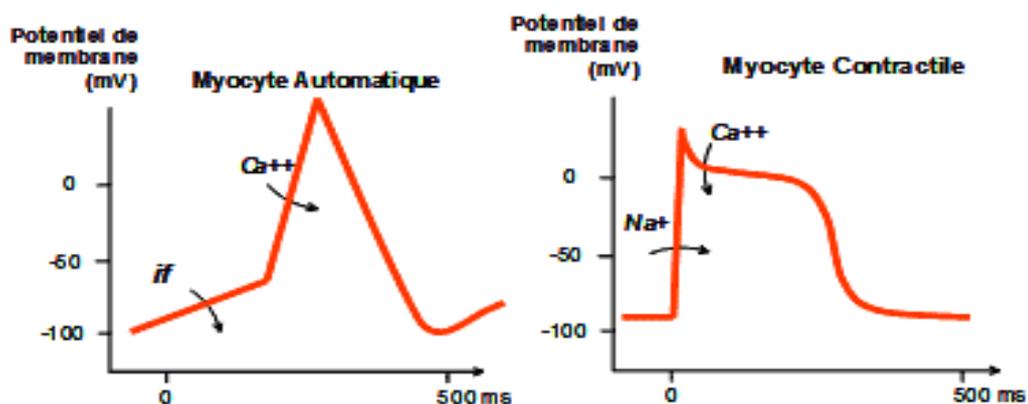


Figure 11 : Le potentiel d'action dans une cellule nodale (à gauche) et une cellule myocardique (à droite) (Barone 1996).

3.1.2. Système cardiorespiratoire du cheval au repos et à l'exercice

Au repos, la FC du cheval varie entre 20 et 40 bpm. A l'effort maximal la FCmax peut atteindre des valeurs de 240 à 250 bpm (Tableau 6) (*Couroucé 2004*). Le cœur du cheval présente une énorme capacité de réserve cardiaque qui lui permet d'éjecter plus que 350 litres de sang par minute à l'effort intense (*Hood 1999*). Au repos, seulement 15 à 20 % du débit cardiaque est utilisé pour l'irrigation musculaire (*McMiken 1983*).

Pendant les épreuves d'endurance en conditions climatiques chaudes et humides, le débit cardiaque diminue en raison de la diminution du volume plasmatique par transpiration. (*Naylor 1993*). Cependant, les chevaux d'endurance de haut niveau ont la capacité de maintenir leur débit cardiaque constant pendant les épreuves d'endurance grâce à un bon système de thermorégulation (*Burlin et al. 1994*).

Tableau 6 : Particularités comparées de l'athlète équin et du sportif humain (*Couroucé 2004*).

	Homme	Cheval
VO ₂ max (ml/min/kg)	70-90	160
FC repos (bpm)	40-60	20-40
FC max (bpm)	190	240-250
Ht repos (%)	40-50	32-46
Ht max (%)	40-50	60-70

Ht : hématoците.

La puissance de la pompe cardiaque du cheval explique en partie le rapport très élevé entre VO₂max et O₂ de repos chez le cheval (36 contre 15-20 chez l'homme) (*Demonceau 1990*). En effet, cela est dû à la fois à la grande réserve cardiaque et aux hématies libérées par la rate pendant l'effort (l'hématoците de 32-46% au repos et 60-70% à l'effort) (Tableau 6).

Au niveau du système respiratoire, à l'inverse de l'homme, le cheval présente une hypoxémie pendant l'exercice modéré et une hypercapnie à l'effort intense (*Art et al. 2000*). Des particularités anatomiques et physiologiques permettent

d'expliquer cette incapacité à maintenir des échanges gazeux adéquats lors d'exercices intenses (*Art et al. 2002 ; Lekeux et al.1994*) (Figure 12).

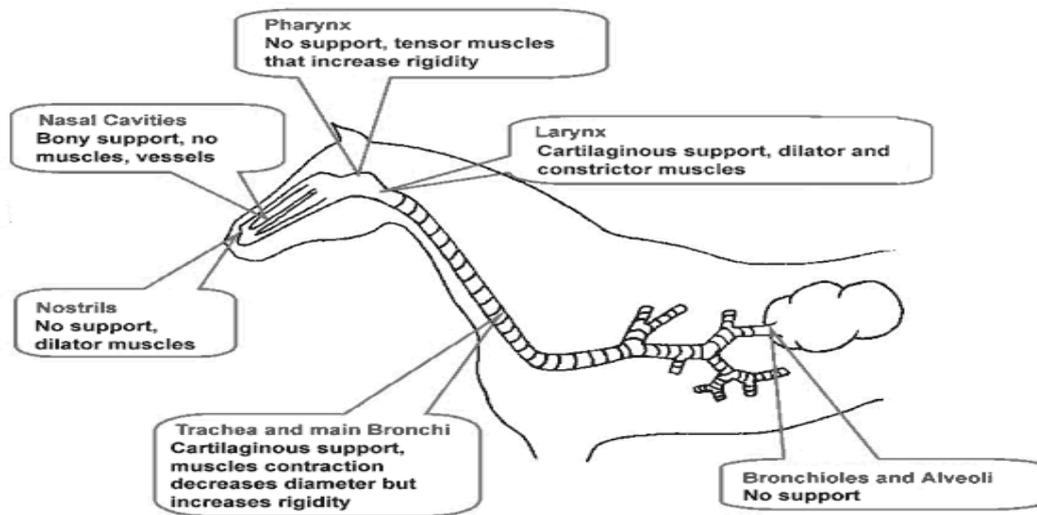


Figure 12 : Caractéristiques de l'appareil respiratoire du cheval montrant pourquoi certaines parties sont plus susceptibles de subir un collapsus dynamique à l'exercice (*Art et al. 2002*).

Lors d'un exercice intense, le volume courant (VT) est environ 30 fois supérieur à ce qu'il est au repos avec une augmentation remarquable de la FR qui est couplée à la fréquence des foulées au galop (*Art et al. 2000*). Les forces mécaniques respiratoires mises en jeu pendant l'effort sont coûteuses en énergie et il semble que l'hypoxémie et l'hypercapnie d'effort minimisent cette perte énergétique (*Art et al. 2000*). A l'effort intense, on observe aussi une élévation de la pression artérielle pulmonaire qui peut dépasser 90 mmHg ce qui provoque parfois l'apparition d'hémorragies pulmonaires. Cette anomalie est peu rencontrée chez les chevaux d'endurance puisqu'il s'agit d'un effort d'intensité modérée (*Art et al. 2000 ; Hinchcliff et al. 2013*).

Les chevaux d'endurance sont de véritables athlètes qui possèdent des capacités cardiorespiratoires adaptées à l'effort de longue durée. Pour mieux comprendre les adaptations cardiaques à l'effort, nous allons étudier les mécanismes physiologiques responsables de la régulation de la fréquence cardiaque à l'effort.

3.1.3. Contrôle extrinsèque de l'activité cardiaque

Bien que le cœur soit auto excitable (contrôle intrinsèque), la FC et la force de contraction cardiaque peuvent varier selon les besoins de l'organisme en énergie et en oxygène. Deux systèmes sont responsables de la régulation de l'activité cardiaque :

3.1.3.1. Système nerveux parasympathique

Le système nerveux parasympathique est une division du système nerveux autonome. Il a pour origine le bulbe rachidien dans le tronc cérébral. Les influx nerveux parasympathiques (PS) arrivent au cœur par le nerf vague (nerf crânien X droit et gauche). Le neurotransmetteur synthétisé par les neurones pré-ganglionnaires sympathique (S) et PS et libéré au niveau de la synapse est l'acétylcholine (fibres cholinergiques). Au niveau post-ganglionnaire, les neurones PS sont aussi cholinergiques et beaucoup plus courts que les neurones S dont le principal neurotransmetteur est, la noradrénaline (Figure 13).

La terminaison axonale du système parasympathique est connectée directement aux nœuds sinusal (pacemaker) et atrio-ventriculaire. L'activation du système PS induit une libération d'acétylcholine au niveau des récepteurs muscariniques post ganglionnaires ce qui provoque une hyperpolarisation des cellules nodales (augmentation de la conductance potassique) et une baisse de la pente de dépolarisation spontanée (canal If) (Figure 11). Ceci entraîne une réduction de l'automatisme sinusal et provoque la baisse de la FC. Au repos, le système PS est responsable de la baisse de la FC, puisque la FC intrinsèque (Nœud sinusal) est d'environ 100 bpm chez l'homme. L'activation du système PS induit un ralentissement de la conduction électrique cardiaque et une diminution de la force de contraction. Cela se traduit par un effet chronotrope, dromotrope et inotrope négatif (*Kenney 2009*).

Chez l'homme, il a été démontré que la stimulation parasympathique a un délai d'action très rapide (environ 300 msec). L'injection d'atropine provoque le blocage des récepteurs cholinergiques du système parasympathique et par conséquent une augmentation de la FC (*Forest et al. 2007*).

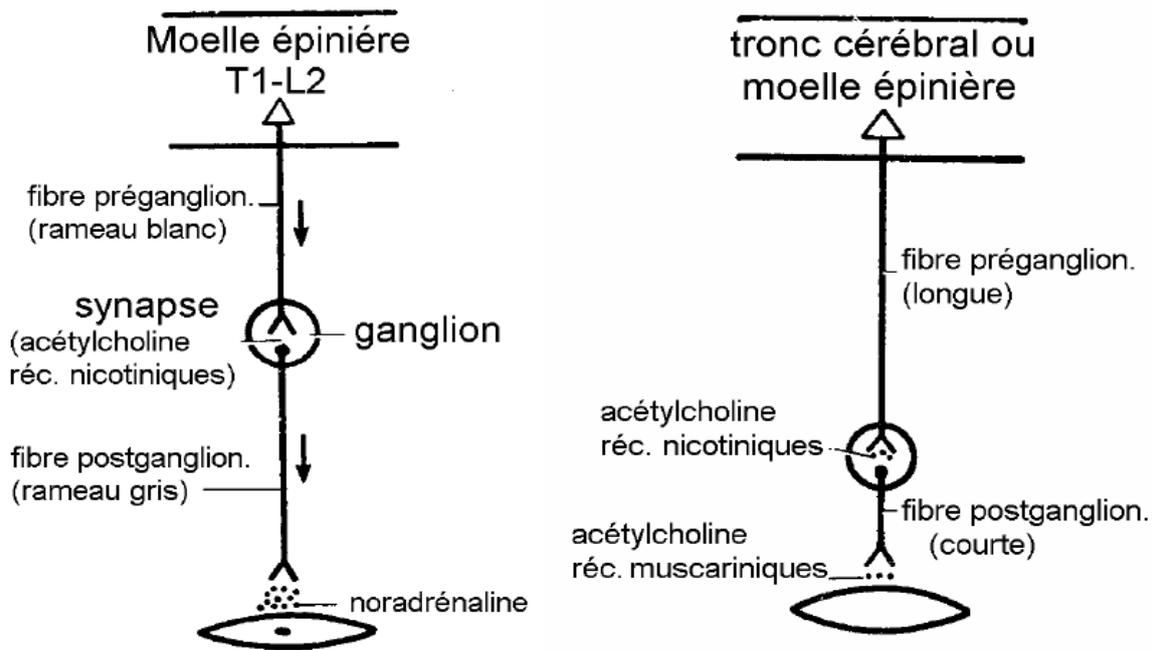


Figure 13 : Schéma explicatif de l'innervation sympathique et parasympathique (Forest et al. 2007).

3.1.3.2. Système nerveux sympathique

Le système nerveux sympathique (S) a des effets opposés au système PS au niveau cardiaque. Le système S agit directement sur le tissu myocardique induisant des actions inotrope (puissance de contraction), chronotrope (fréquence de contraction), dromotrope (vitesse de conduction), bathmotrope (excitabilité) et lusinotrope (vitesse de relaxation) positives. Le système S est mis en jeu lors de tout stress, lorsque la FC dépasse les 100 bpm (fréquence du nœud sinusale). Ainsi, l'augmentation de la FC au début de l'effort est due à une levée du système PS puis à une activation du système sympathique (Figure 14) (Kenney 2009).

A l'inverse du système vagal, l'activation sympathique peut durer jusqu'à 30 secondes et augmenter la FC jusqu'à 240 bpm. Le blocage des récepteurs β adrénergiques par des bêtabloquants sélectifs ou non sélectifs provoque une baisse remarquable de la FC (Forest et al. 2007 ; Kenney 2009).

La stimulation du système S lors d'un exercice physique provoque une dilatation broncho-pulmonaire et une vasoconstriction adrénergique.

Le système nerveux autonome (S et PS) est principalement contrôlé par le système nerveux central (la moelle épinière, le tronc cérébral et l'hypothalamus).

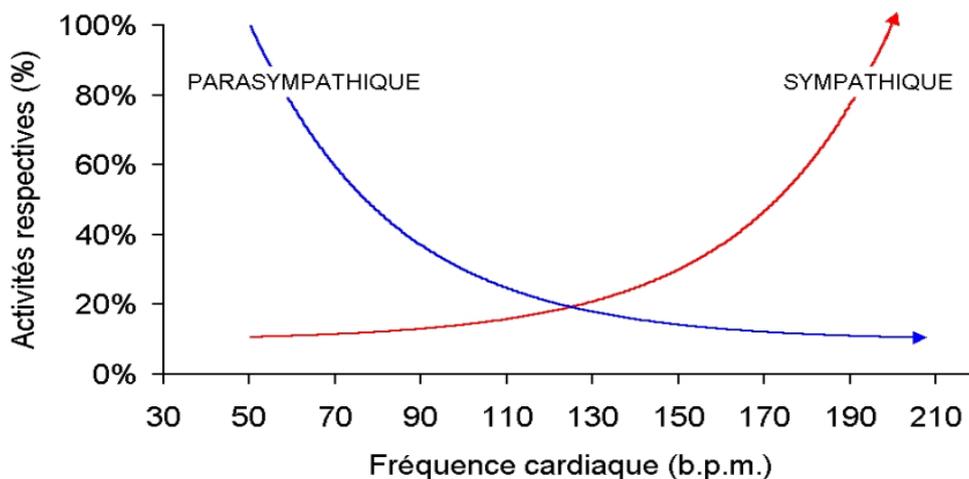


Figure 14 : Variation de la fréquence cardiaque en fonction de l'activité sympathique et parasympathique (Forest et al. 2007).

3.2. Méthodes d'évaluation du système nerveux autonome (SNA)

Le SNA est le principal responsable de la variation de l'activité cardiaque au repos et pendant l'exercice. Afin de mieux comprendre l'implication du SNA dans les réponses physiologiques et la variabilité cardiaque à l'effort, nous allons étudier plusieurs méthodes d'évaluation du SNA et les comparer à la méthode d'analyse de la variabilité cardiaque qui fait l'objet de cette thèse.

3.2.1. Méthodes non cardiovasculaires

Ces méthodes consistent à mesurer l'activité du SNA à partir des mécanismes réflexes de l'organisme, par exemple, à partir de l'activité nerveuse musculaire (sympathique) détectée au niveau du nerf péronier (Ichinose et al. 2004 ; Rea et Eckberg. 1987). Elles sont très peu utilisées car invasives (implantation d'électrode) et leur fiabilité est sujette à discussion. Une autre méthode basée sur la sécrétion sudorale (volume de la sueur après évaporation) est utilisée pour évaluer l'activité sympathique (Shimoda et al. 1989). D'autres études ont évalué l'activité du SNA à partir de la sécrétion salivaire chez le chien (McCloskey et Potter. 2000) ou même à partir de la motricité pupillaire (Filipe et al. 2003).

Toutes ces méthodes permettent d'évaluer de façon plus ou moins satisfaisante l'activité du SNA, mais ne sont pas adaptées à l'effort physique.

3.2.2. Méthodes cardiovasculaires

Les méthodes d'évaluation du SNA à partir des ajustements cardiovasculaires sont nombreuses. Nous n'aborderons dans cette partie que les méthodes les plus courantes. Ensuite nous présenterons d'une manière détaillée les méthodes d'analyse de la variabilité cardiaque utilisées dans cette thèse.

3.2.2.1. Variabilité de la pression artérielle

La régulation de la pression artérielle (PA) est assurée principalement par le SNA grâce à divers récepteurs (barorécepteurs et chémorécepteurs) qui détectent les variations de la PA dans l'organisme.

La variation de la PA autour d'une valeur moyenne entraîne une variation opposée de la FC (Figure 15) (Hughson et al. 1993). L'étude de la variabilité de la PA est donc un indicateur fiable d'évaluation de l'activité sympathique du SNA (Cottin et al. 2008 ; Bernardi et al. 1997 ; Lossius et al. 1993).

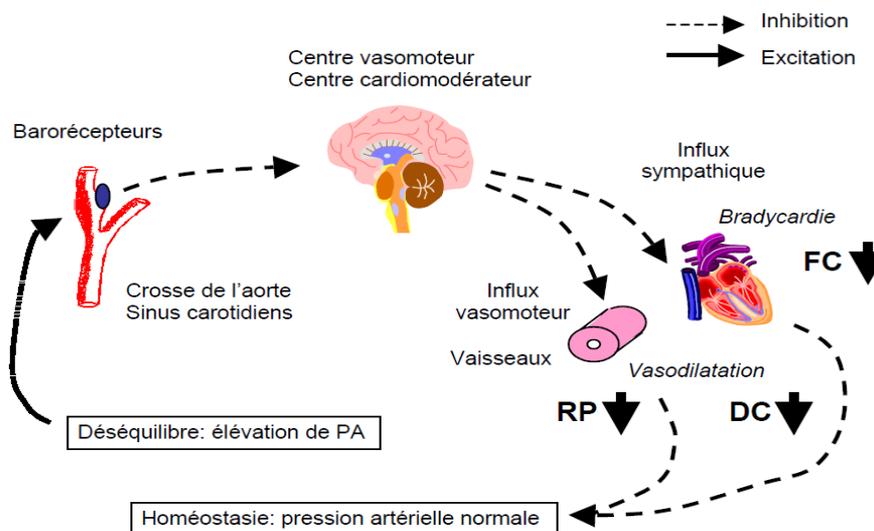


Figure 15 : Ajustement de la pression artérielle par rétrocontrôle de l'arc baroréflexe. PA : Pression artérielle, FC : fréquence cardiaque, DC : débit cardiaque, RP : résistance périphérique (Buchheit 2004).

3.2.2.2. Arythmie sinusale respiratoire

Que ce soit chez l'homme ou chez le cheval, la FC est très influencée par la fréquence et l'amplitude respiratoires. En effet, sur un enregistrement cardiaque la FC augmente pendant l'inspiration puis diminue à l'expiration. L'arythmie

sinusale respiratoire (ASR) est d'origine centrale et périphérique (Figure 16) (Berntson et al. 1993 ; Cottin 1999).

La méthode « amplitude pic-vallée » est la plus simple pour quantifier l'ASR et évaluer le SNA (Buchheit 2004). Cette méthode consiste à mesurer la différence entre la durée maximale et la durée minimale des intervalles RR lors d'un cycle respiratoire. Cette différence (RRmax-RRmin) reflète l'activité parasympathique induite par l'ASR.

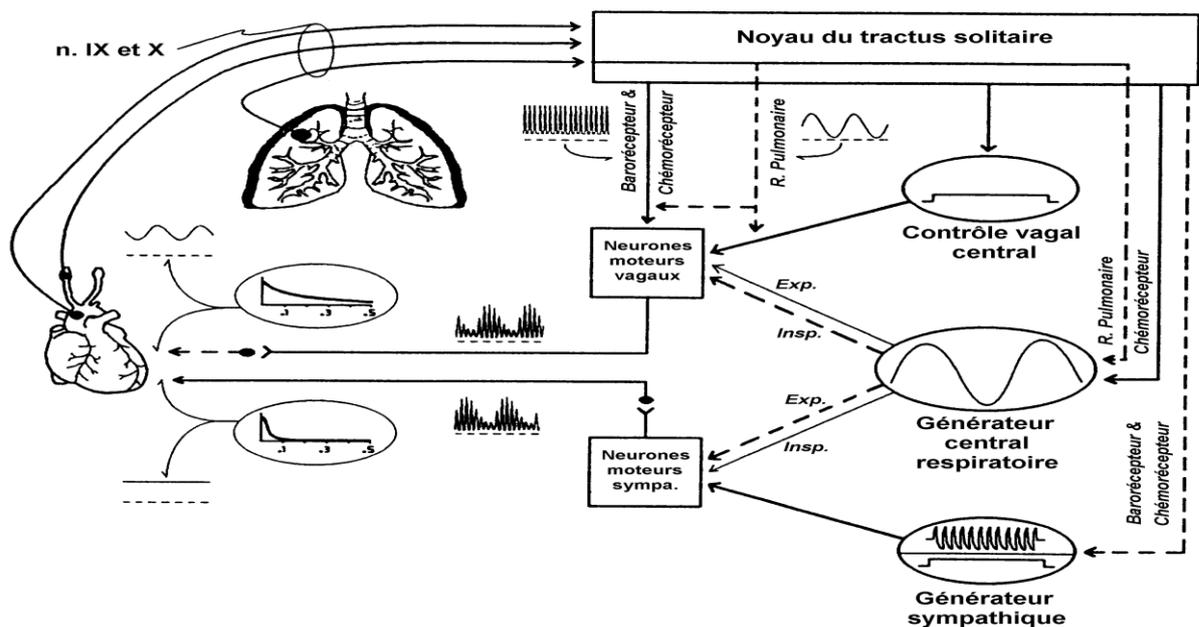


Figure 16 : Illustration de l'effet des interactions entre les déterminants périphériques et centraux de l'arythmie sinusale respiratoire. Les traits pleins représentent les effets facilitateurs, les traits pointillés les effets inhibiteurs (Berntson et al. 1993 ; Cottin 1999).

3.2.2.3. Mesures cardiaques et SNA

Plusieurs études (Trinder et al. 2001 ; Van Eekelen et al. 2004) ont montré que la durée de la contraction iso volumétrique (durée entre QRS sur ECG et le début d'éjection ventriculaire) pouvait refléter l'activité sympathique. D'autres études (Cavallaro et al. 1993 ; Spataro et al. 1998) ont également montré que la durée de repolarisation ventriculaire (onde T sur ECG) est un indice de l'activité sympathique.

Ces méthodes sont de bons indicateurs de l'activité orthosympathique du cœur mais ils sont très sensibles à la qualité des enregistrements cardiaques qui est généralement médiocre pendant l'effort.

3.3. Etude de la variabilité de la fréquence cardiaque (VFC)

L'analyse de la variabilité de fréquence cardiaque (VFC) donne des indices correspondant à la régulation autonome de la fréquence cardiaque à partir de mesures non invasives. En effet, la FC n'évolue pas d'une manière constante au cours du temps et il existe une fluctuation battement par battement autour d'une valeur moyenne. La VFC est affectée par les changements du système nerveux autonome ; elle peut être considérée comme un indicateur du niveau d'entraînement, d'une mauvaise récupération, ou comme un symptôme de surentraînement chez l'homme et le cheval. Afin d'évaluer quantitativement et qualitativement les variations de la VFC, plusieurs méthodes ont été développées.

3.3.1. Méthodes d'analyse de la variabilité cardiaque

Les variations de la fréquence cardiaque sont visibles à l'œil nu sur un ECG et se manifestent par des variations des intervalles RR successifs. L'analyse de cette variabilité de la fréquence cardiaque par les méthodes temporelles et spectrales permet d'obtenir des indices reflétant l'activité de la fonction autonome.

3.3.1.1. Domaine temporel

3.3.1.1.1. Analyse statistique

Les méthodes temporelles sont les plus simples et les plus utilisées pour les enregistrements de longues durées (24 h). Ces méthodes reposent sur l'analyse statistique des séries des valeurs des intervalles RR au cours du temps. Parmi les indices les plus utilisés : le SDNN (écart-type des RR normaux) reflète la variabilité globale de la FC ; le RMSSD (Racine carrée de la moyenne des carrés des différences des intervalles RR successifs) reflète la variabilité à court terme et a été relié au contrôle parasympathique cardiaque (Tableau 7) (*Souza Neto et al. 2003 ; Task Force 2006*).

Tableau 7 : Indices de la variabilité cardiaque dans le domaine temporel (*Task force 2006*).

Indice	Unité	Définition
SDNN	Ms	Ecart-type de la série complète de période RR.
RMSSD	Ms	Racine carrée de la moyenne des carrés des différences des intervalles RR successifs
SDSD	Ms	Ecart type des différences entre les intervalles RR successifs
SDNN Index	Ms	Moyenne des écarts-type de tous les intervalles R-R de tous les enregistrements de 5 minutes d'un enregistrement entier.
NN50		Nombre de périodes R-R successives dont la différence est supérieure à 50 millisecondes (ms) dans un enregistrement entier.
pNN50	%	= NN50 / nombre total de périodes R-R

3.3.1.1.2. Analyse géométrique

Bien que la méthode statistique donne une idée globale sur la variabilité cardiaque, cette dernière est souvent entachée de valeurs aberrantes (artéfacts, extrasystoles,...). Au contraire, l'analyse géométrique permet d'écarter ces valeurs aberrantes qui sont facilement distinguées. Il existe deux méthodes d'analyse géométrique :

✓ Méthode de l'histogramme de fréquence

L'histogramme de fréquence permet de distribuer les intervalles RR en fonction de leurs durées et de dessiner un triangle, afin de calculer un indice triangulaire (VFC index) qui est le rapport entre l'aire du triangle et sa hauteur (Figure 17). L'aire du triangle représente le nombre d'intervalles RR utilisés et la hauteur la durée de l'intervalle le plus présenté. La valeur de VFC index est proche de SDNN qui reflète la variabilité globale de la période analysée.

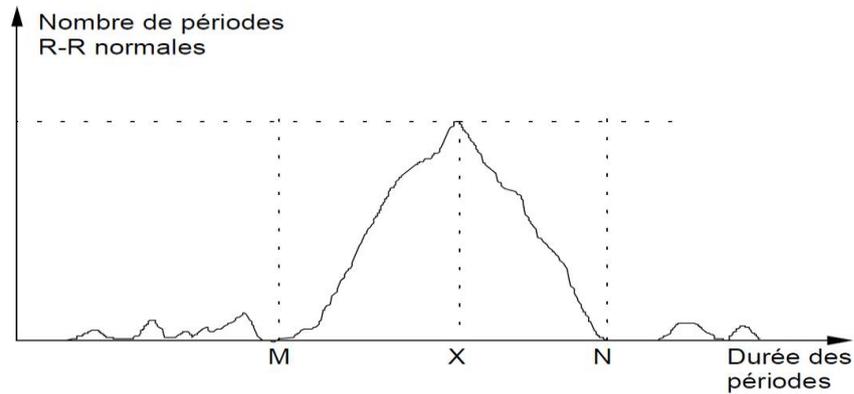


Figure 17 : Histogramme de densité de distribution des périodes R-R. En abscisse, les valeurs des périodes R-R enregistrées ; en ordonnée, le nombre de périodes R-R de même longueur correspondant à la valeur en abscisse. La période R-R la plus fréquente est de durée X et correspond à la densité de distribution maximale $Y = D(X)$. L'index triangulaire de variabilité de FC est la valeur obtenue en divisant l'intégrale de D par la valeur maximale Y. Quand la distribution de D est construite avec une échelle discrète sur l'axe horizontal, la valeur obtenue est $VFC_{index} = (\text{nombre total d'intervalles R-R}) / Y$ (Cottin 1999 ; Souza Neto et al. 2003 ; Task Force 2006).

✓ Méthode des diagrammes de Poincaré

Cette méthode graphique, représente chaque intervalle R-R en fonction du suivant (Figure 18). Elle permet de construire un nuage de points : le diamètre court du nuage de point est un indicateur de la variabilité à courte terme ($DS1^2 = \frac{1}{2}(SDSD)^2$) qui reflète l'activité parasympathique. Le diamètre plus long ($SD2^2 = 2SDRR^2 - \frac{1}{2}(SDSD)^2$) est un indicateur de la variabilité à long terme (Brennan et al. 2001 ; Cottin et al. 2004 ; Huikuri et al. 1996 ; Souza Neto et al. 2003).

En utilisant les diagrammes de Poincaré, l'analyse de la variabilité de la fréquence cardiaque a montré que la mauvaise condition physique est associée à une altération de la fonction vagale au cours de l'exercice, alors que le vieillissement se traduit par une dégradation plus évidente de la fonction vagale au repos (Tulppo et al. 1998a, 1998b).

La méthode de Poincaré Plot a été utilisée comme indicateur de variation de la VFC pendant la récupération cardiaque chez le cheval après des exercices de haute intensité (Cottin et al. 2006). Cette méthode ne nécessitant pas une condition stationnaire, elle peut être utilisée à l'exercice et permet même

d'observer des fluctuations indétectables par des méthodes plus avancées (Cottin et al. 2006 ; Tulppo et al. 1998a, 1998b).

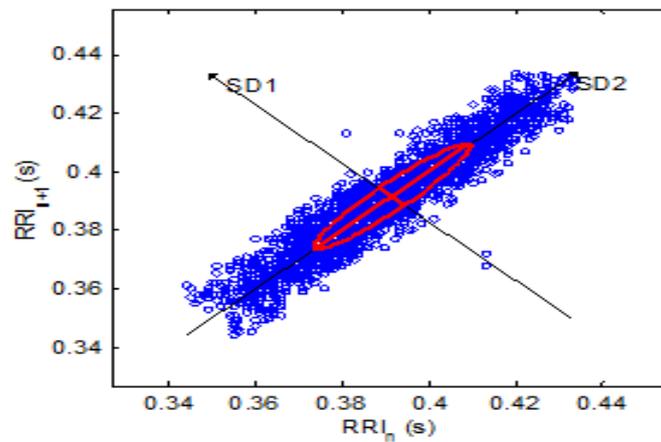


Figure 18 : Graphe de Poincaré Plot pour la période R-R d'un cheval d'endurance à l'effort. La moyenne des intervalles R-R est de 391 ms. L'écart-type SD1 = 4,2 ms, SD2= 24,5 ms. n = numéro de la période cardiaque étudiée

Parmi les avantages des méthodes géométriques d'analyse de la VFC, leur insensibilité aux valeurs aberrantes des séries RR et le fait qu'elles ne nécessitent pas une condition strictement stationnaire. En revanche, l'inconvénient principal de ces méthodes est qu'elles nécessitent un nombre important de points (environ 15 min d'enregistrement et dans l'idéal 24h).

Il faut noter aussi qu'il est inapproprié de comparer des indices de VFC dans le domaine temporel issus de durées d'enregistrement différentes (Task Force 2006).

3.3.1.2. Domaine fréquentiel : analyse spectrale

L'analyse spectrale (AS) repose sur le calcul du contenu spectral d'une série chronologique d'intervalles R-R consécutifs. En 1981, *Akselrod et al.* sont les premiers auteurs à utiliser l'analyse spectrale de la série RR pour quantifier le contrôle autonome cardiaque.

Plusieurs études ont utilisé cette méthode (AS) pour étudier la VFC chez le cheval au repos (*Clement et Barrey. 1995 ; Kuwahara et al. 1996 ; Oel et al. 2014 ; Ohmura et al. 2012*) et à l'effort (*Cottin et al. 2005, 2006 ; Physick-Sheard et al. 2000 ; Voss et al. 2002*). L'analyse temps-fréquence peut s'effectuer par plusieurs méthodes telles que les méthodes non paramétriques

(transformée rapide de Fourier (FFT), la transformée à court terme de Fourier (STFT), l'analyse temps-fréquence de pseudo Wigner-Ville lissée (SPWVD) et la méthode paramétrique d'auto-régression (AR). Nous allons présenter seulement les méthodes abordées dans cette thèse : la transformée rapide de Fourier (FFT), la transformée à court terme de Fourier (STFT) et l'analyse temps-fréquence de type distribution de pseudo Wigner-Ville lissée (SPWVD) qui représentent les méthodes les plus adaptées pour l'analyse de la VFC à l'exercice (*Cottin et al. 2006*).

L'analyse temps-fréquence permet d'identifier des oscillations périodiques en séparant les composantes en :

- Haute fréquence (HF, entre 0,15 Hz et f_{max} Hz),
- Basse fréquence (LF, entre 0,04 Hz et 0,15 Hz),
- Très basse fréquence (VLF, entre 0,003 Hz et 0,04 Hz),
- Ultra basse fréquence (ULF $<0,003$ Hz), qui ne peut être obtenue qu'à partir d'enregistrements de longue durée (*Task Force 2006*).

La méthode de transformée rapide de Fourier (FFT), repose sur le fait que chaque signal stationnaire peut être décomposé en une somme de sinusoides simples de fréquences croissantes. La transformation de Fourier consiste à décomposer une fonction selon ses fréquences, tout comme un prisme décompose la lumière en couleurs différentes, et transforme ainsi une fonction $f(t)$ dépendante du temps en une fonction $F(f)$ dépendante de la fréquence du signal. Par exemple, une oscillation constituée par une sinusoides simple ne donnera après analyse spectrale qu'un pic, alors qu'un signal constitué par la somme de deux sinusoides simples, donnera un spectre présentant deux pics correspondant à la fréquence des deux sinusoides, et dont l'ordonnée respective sera proportionnelle à l'amplitude de chacune (PSD = densité de puissance spectrale) (Figure 19). L'application de la FFT sur les signaux cardiovasculaires (stationnaires) fait apparaître principalement deux oscillations, une lente (LF) d'une période de 10 secondes (0,1 Hz) qui correspond à l'onde de Mayer (*Cohen et Taylor 2002*) et la seconde, plus rapide (HF) entre 0,15 et 0,4 Hz au repos et qui est synchronisée avec la ventilation (Figure 19).

Ces oscillations (LF et HF) sont quantifiables par la mesure de la puissance spectrale (ou énergie spectrale) qui est l'intégration de la densité de puissance

spectrale (PSD) sur les bandes de fréquences LF et HF. On note la puissance spectrale en LF, LF (ms^2) et la puissance en HF, HF (ms^2) (Figure 19).

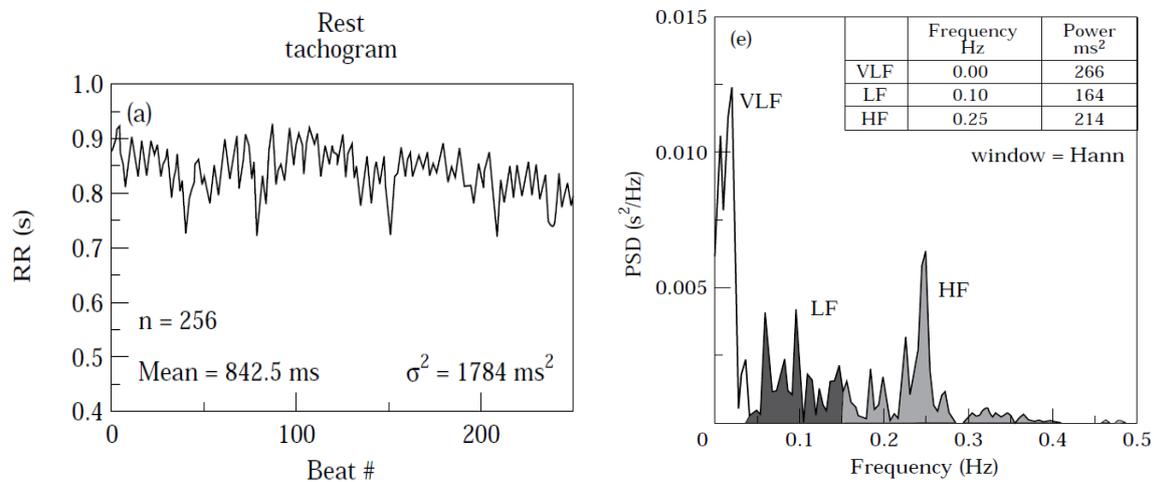


Figure 19 : Exemple de tachogramme et de périodogramme d'un sujet éveillé en position allongée. PSD = densité de puissance spectrale (*Task Force 2006*).

L'utilisation de la FFT pour l'analyse des signaux cardiovasculaires présente des limites et des avantages. Le principal inconvénient de cette méthode qu'elle n'est applicable que pour des signaux stationnaires et ne donne aucune information sur le temps, alors que les signaux cardiovasculaires sont souvent non stationnaires, surtout à l'exercice (*Wolf et al. 1978 ; Yamamoto et Hughson. 1991*). La simplicité de l'algorithme utilisé de la FFT rend néanmoins cette méthode simple et rapide.

3.3.1.3. Domaine temps-fréquence

3.3.1.3.1. La transformée de Fourier à court terme (STFT)

L'analyse de Fourier classique (FFT) est applicable seulement pour les signaux stationnaires et ne donne aucune information sur le temps. C'est pour cette étude que Dennis Gabor a reçu le prix Nobel de physique en 1971 après avoir montré comment utiliser la transformée de Fourier « à fenêtre » pour analyser le signal à la fois en temps et en fréquence. La STFT, consiste à analyser le signal dans une fenêtre donnée, qui définit la taille de l'intervalle analysé pour limiter la plage de temps analysée (*Keselbrener et Akselrod. 1996 ; Task Force 2006*). Après avoir analysé le premier segment, un glissement longitudinal s'effectue le

long du signal. La taille de la fenêtre ne change pas pendant l'analyse, mais on la remplit successivement d'oscillations de fréquences différentes (Figure 20). Cette méthode tolère la non stationnarité des signaux cardiovasculaires (l'exercice physique) et elle est plus adaptée à des analyses de courte durée (Pichon et al. 2004).

La principale limite de cette méthode réside dans le choix de la taille de la fenêtre d'analyse. En effet, lorsque cette dernière est très étroite, on identifie très bien les changements brusques (pics, discontinuité ...) mais on perd l'information des oscillations de basse fréquence. Inversement, le choix d'une fenêtre large permet de localiser les basses fréquences mais on manque cependant les évènements brusques et de courtes durées (Task Force 2006). Afin d'avoir des analyses fiables de la VFC en utilisant la STFT, il est indispensable de choisir une fenêtre d'analyse adaptée à l'enregistrement effectué. Il existe d'autres méthodes, comme la Transformée en ondelettes, qui peuvent pallier à ces inconvénients en faisant varier la taille de la fenêtre à partir d'une fonction mère (Pichot et al. 1999). Elles ne seront pas abordées dans cette thèse.

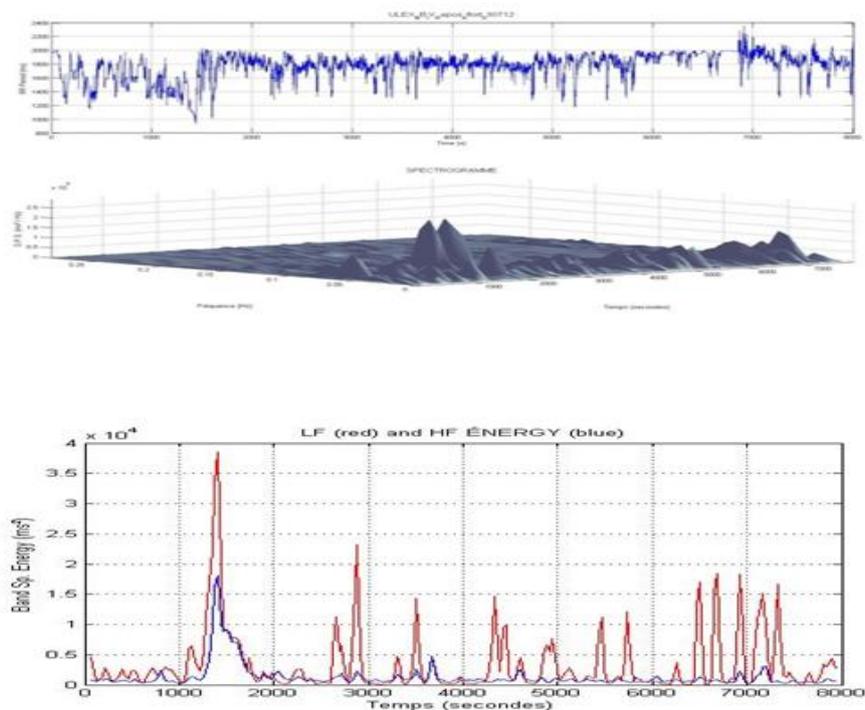


Figure 20 : Transformée de Fourier à court terme (STFT) d'un enregistrement cardiaque (RR) d'un cheval au repos. En rouge l'énergie spectrale des basses

fréquences (LF ms²) et en bleu l'énergie spectrale des hautes fréquences (HF ms²)

3.3.1.3.2. *Pseudo-transformation de Wigner-Ville lissée (SPWVD)*

La transformation de Wigner-Ville est une structure bilinéaire (temps-fréquence), qui présente une meilleure résolution que le Spectrogramme. Cette transformation introduite en mécanique quantique par Wigner en 1932 puis appliquée au traitement des signaux par Ville en 1948, permet de transformer un signal $x(t)$ exprimé en fonction du temps en une fonction du temps et de la fréquence à la fois. La transformation de Wigner-Ville présente en théorie la meilleure précision temps-fréquence actuelle (Figure 21). Cependant comme toutes les méthodes de traitement des signaux cardiovasculaires elle a des limites comme l'apparition de termes dits d'interférences qui peuvent dans certains cas nuire à la lisibilité de la représentation temps-fréquence obtenue, par l'apparition d'oscillations imprévisibles liées à l'interaction entre les différentes composantes temps-fréquence du signal étudié. C'est la conséquence indirecte de la bilinéarité de la distribution. Pour pallier cet inconvénient il est possible d'effectuer un lissage fréquentiel (Pseudo Wigner-Ville) ou temporel et fréquentiel à la fois (Pseudo Wigner-Ville lissée), au prix d'une perte acceptable de résolution. La pseudo-représentation de Wigner-Ville lissée a notamment été utilisée pour analyser la variabilité de la fréquence cardiaque au cours d'études cliniques sur la balance sympatho-vagale (*Baillard et al. 2001*) ou chez les sportifs (*Cottin et al. 2008*).

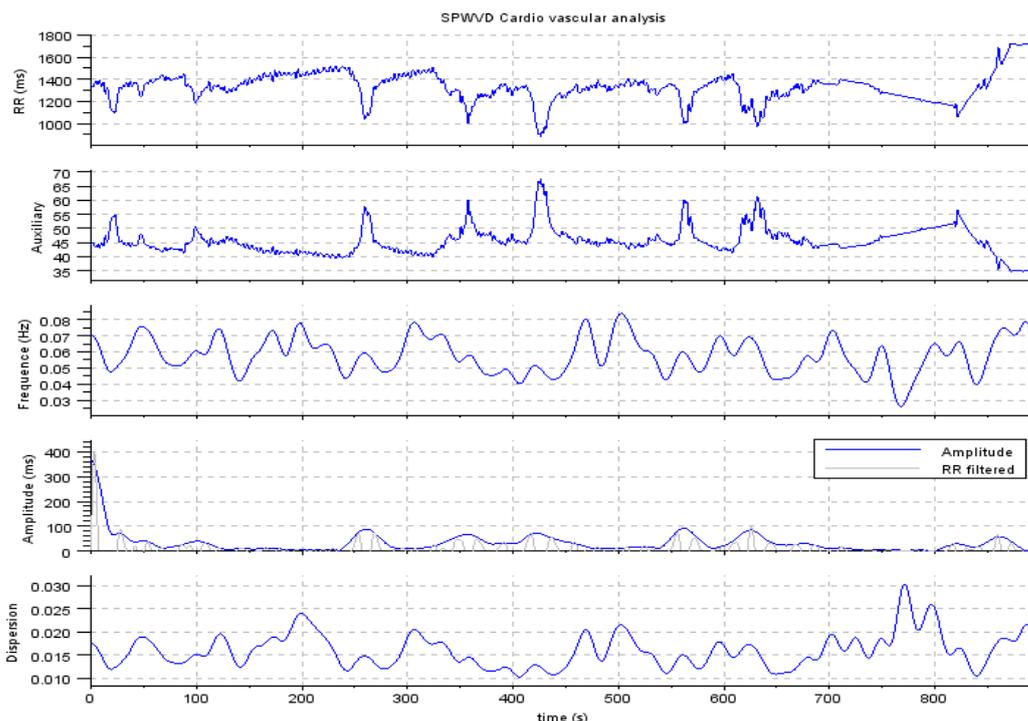


Figure 21 : Analyse temps-fréquence de Pseudo Wigner-Ville Lissée d'un enregistrement cardiaque (RR) chez un cheval d'endurance au repos.

3.3.2. Signification physiologique des indices de la VFC

Plusieurs méthodes sont utilisées dans la littérature afin d'identifier la relation entre les différents indices de la VFC et l'activité du SNA. Cependant à ce jour plusieurs études présentant des résultats contradictoires et le sujet reste controversé.

3.3.2.1. Activité parasympathique et indices de la VFC

La stimulation électrique du nerf vague chez l'homme provoque une augmentation remarquable de la puissance spectrale des hautes fréquences (HF ms^2) (Kamath et al. 1992). Ceci a permis d'établir une relation directe entre l'activité vagale et les composantes rapides (HF) de la VFC. D'autres études réalisées chez l'homme ont montré que l'injection de l'atropine connue pour son action parasympatholytique provoque une baisse remarquable de la puissance spectrale des HF (ms^2) et des indices temporels (RMSSD et PNN50) (Girard et al. 1995 ; Jokkel et al. 1995). Chez le cheval, l'injection d'atropine provoque une

baisse de la puissance spectrale en LF et en HF associée à une augmentation de la FC (*Ohmura et al. 2001*). Au contraire l'injection de propranolol qui bloque les récepteurs β adrénergiques (bêta-bloquant) provoque une augmentation de la puissance spectrale dans les deux bandes de fréquence LF et HF (*Kuwahara et al. 1996*). Ces résultats montrent que l'intensité du contrôle cardiaque parasympathique est proportionnelle à la puissance spectrale dans les deux bandes de fréquence LF et HF chez le cheval.

D'une façon générale, la puissance spectrale des HF $> 0,15$ Hz de l'analyse spectrale reflète exclusivement l'activité parasympathique et la fréquence respiratoire (Pic de HF (f_{HF})) pendant l'exercice. D'autres indices temporels (RMSSD et PNN50) sont associés à l'activité vagale. La relation entre la puissance spectrale des composantes rapides (HF ms^2) et l'activité vagale peut être expliquée aussi par la nature des neurones et des neurotransmetteurs du SNA. En effet, les neurones post-synaptiques parasympathiques sont myélinisés et sont beaucoup plus courts que les neurones sympathiques (Figure 13). Ceci peut expliquer en partie la réponse rapide du système parasympathique et sa relation avec la puissance spectrale de la composante rapide HF (ms^2). En plus, l'acétylcholine, relais de l'activité vagale ayant un effet très rapide a sûrement un effet sur les indices de la composante rapide de la VFC.

3.3.2.2. Activité sympathique et indices de la VFC

Plusieurs études (*Pagani et al. 1997; Setty et al. 1998*) ont établi une relation positive entre les basses fréquences (LF $> 0,04$ Hz- $0,15$ Hz) et l'activité sympathique au niveau musculaire et au niveau de la VFC. D'autres travaux (*Jokkel et al. 1995; Souza Neto et al. 2003; Task Force 2006*) ont montré que les bêtabloquants provoquent une baisse de la FC par une inhibition de l'activité sympathique qui se traduit par une augmentation de la puissance spectrale des HF (ms^2). Il semble que la puissance spectrale des basses fréquences (LF ms^2) soit liée à l'activité sympathique avec une composante parasympathique (*Akselrod et al. 1981; Souza Neto et al. 2003; Task Force 2006*). En effet, comme la noradrénaline qui agit lentement est impliquée dans la composante sympathique, il est très probable qu'elle influence la composante lente (LF ms^2) issue de l'analyse spectrale.

Bien que les significations des HF soient bien définies, les LF restent toujours sujet à controverse et cet indice a été remis en question dans plusieurs études

(Eckberg 1998 ; Skyschally et al. 1996). C'est pour cette raison que certains auteurs utilisent la puissance spectrale des LF en valeur normalisée ($LF_{n.u} = LF / (LF + HF)$) comme indice de l'activité sympathique et de la balance sympathovagale (Malliani et Montano. 2002 ; Montano et al. 1998 ; Oel et al. 2014 ; Voss et al. 2002).

3.3.3. Facteurs de variation de la VFC

3.3.3.1. Effet du stress sur la FC et la VFC chez le cheval

Le stress est un facteur qui provoque des changements rapides et remarquables sur le système cardiorespiratoire et la VFC chez l'homme ainsi que chez le cheval. Plusieurs types de stress (transport, compétition, manque de nourriture, cavalier,...) ont un impact direct sur la VFC chez le cheval. Plusieurs études (Ohmura et al. 2006, 2012 ; Schmidt et al. 2010a, 2010b, 2010c ; Waran et al. 1996) ont étudié l'effet de différents types de transport (routier et aérien) sur la VFC. D'une façon générale, le transport des chevaux est un véritable stress qui provoque une baisse de la VFC. Cette baisse se manifeste par une réduction de l'activité parasympathique (diminution de RMSSD, SDRR, RR et HF) et une augmentation de l'activité sympathique (augmentation de SD2 et LF). D'autre part, l'étude d'Ohmura et al. en 2012b a montré que le transport aérien provoque une baisse de VFC plus importante que le transport routier.

Au contraire, Munsters et al. en 2013 ont montré que le transport routier provoque une augmentation plus élevée de la FC (baisse de la VFC) que le transport aérien. Cependant, la baisse de la VFC pendant le transport diminue généralement lorsque les chevaux sont exposés à des transports répétés, ce qui peut être expliqué par une adaptation du cheval au stress de transport (Schmidt et al. 2010b).

D'autres facteurs tels que le manque de nourriture provoquent des modifications remarquables de la VFC. L'étude de Ohmura et al en 2012a a montré que les chevaux soumis au jeûne pendant 24 h présentent une baisse de la FC et du rapport LF/HF avec une augmentation de la puissance spectrale des LF (ms^2) et des HF (ms^2) par rapport au groupe de contrôle. Cependant, il semble que le stress provoqué par le transport a un effet plus remarquable sur la VFC que les conditions de jeûne chez les chevaux (Ohmura et al. 2012b).

La VFC est très influencée aussi par les émotions. L'étude de *Von Lewinski et al. en 2013* a montré que la FC du cheval et du cavalier augmentent significativement (avec une baisse de RMSSD) en présence des spectateurs par rapport au même exercice effectué sans spectateurs. La VFC est affectée également par l'état psychique du cheval, elle est élevée pendant la période précompétitive et diminue de manière significative pendant la période de compétition, indiquant une augmentation de la charge de stress pendant la période de compétition (*Kinnunen et al. 2006*).

Le cavalier peut être aussi un facteur stressant surtout chez les jeunes chevaux. En effet une étude réalisée chez des jeunes chevaux de course âgés de 3 ans a montré une diminution de l'activité parasympathique (RMSSD) lorsque le cheval est monté par le cavalier pendant l'exercice. (*Schmidt et al. 2010c*).

L'analyse de la VFC procure ainsi un indicateur fiable de l'état émotionnel et du degré de stress extérieur que subissent les chevaux au repos et pendant l'entraînement (*Munsters et al. 2013 ; Visser et al. 2002 ; Von Borell et al. 2007*).

La VFC chez le cheval est très sensible aussi aux variations externes (conditions environnementales) et à d'autres facteurs (entraînement, âge ...). Pour avoir des mesures fiables de la VFC, il faut prendre en considération tous les facteurs (internes et externes) qui peuvent influencer les enregistrements cardiaques au repos et pendant l'exercice.

3.3.3.2. Effet de l'âge sur la FC et la VFC

Chez l'homme, la FC de repos varie selon les individus et le niveau d'activité entre 50 et 70 bpm, mais pour certaines personnes, la FC de repos peut atteindre les 30 bpm. En 1954, Astrand et Ryming ont établi la formule classique de la FC maximale à l'effort ($FC_{max} = 220 - \text{age}$). Selon les individus, elle varie en général entre 180 et 210 bpm, mais pour certaines personnes, la FC_{max} peut atteindre les 240 bpm.

L'âge est un facteur déterminant pour l'activité du système nerveux autonome (SNA). Ainsi, le vieillissement provoque une baisse de l'activité vagale du cœur qui se traduit par une diminution de la variabilité cardiaque chez l'adulte. Inversement, l'enfant pré-pubère se caractérise par une activité parasympathique cardiaque très élevée associée à une activité sympathique vasculaire très faible même en condition de stimulation. Les paramètres de la

VFC augmentent avec l'âge pour atteindre un pic à la fin de la période pré-pubère et au début de l'adolescence (*Silvetti et al. 2001*). À l'âge adulte, il est admis que les indices de la VFC diminuent avec l'âge (*Antelmi et al. 2004 ; Tulppo et al. 1998a, 1998b*). L'activité parasympathique cardiaque tend à diminuer avec l'âge, tandis que l'activité sympathique cardiaque et vasculaire augmente (*Carter et al. 2003 ; Young 1999*). Cependant, la baisse de la VFC et de l'activité vagale en fonction de l'âge est plutôt attribuée à une diminution de la forme physique et par le manque d'entraînement (*Carter et al. 2003 ; De Meersman et Stein. 2007 ; Goldsmith et al. 1997*).

Chez le cheval, le niveau d'entraînement, le sexe, la race, l'âge sont des facteurs de variation de FC qui doivent être considérés lors de l'interprétation des estimations ou des mesures de FCmax (*Vincen et al. 2006*). L'ensemble de ces variables représente 41% de la variance de la FC max, l'âge seul représentant 13%. La FC max chez le cheval diminue avec l'âge ; elle est également influencée par d'autres facteurs qui restent à identifier (*Betros et al. 2002 ; Vincen et al. 2006*). Une équation de prédiction de FC max à l'effort a été établie par *Vincen et al. en 2006* : $FC_{max} = 223 - 0,9 \text{ bpm/min/an}$. Cependant, d'autres études (*Auvinet et Demonceau 1992 ; Seeherman et Morris 1991*) n'ont pas trouvé de relation significative entre la FCmax et l'âge du cheval. Actuellement, il n'y a pas ou peu d'études sur l'effet de l'âge sur la VFC chez le cheval.

3.3.3.3. Effet de l'entraînement sur la FC et la VFC

✓ Chez l'homme

Le sujet sportif présente une bradycardie au repos et une variabilité de la FC plus élevée pendant l'effort qu'un sujet sédentaire (*Goldsmith et al. 1997 ; Tulppo et al. 1998a ; Wilmore et al. 1996*). Entre un sujet sportif de haut niveau et un sujet non entraîné les niveaux de FC à l'effort sont complètement différents. Pendant un test d'effort incrémenté, la FC d'un sportif atteint des valeurs plus élevées qu'un sédentaire sur le même test. Ceci, se traduit par une réserve d'accélération ($RA = FC_{max} - FC_{repos}$) beaucoup plus importante chez le sportif que chez le sujet non entraîné. Pendant l'effort, un athlète met donc moins de temps pour atteindre une certaine stabilité de FC qu'un sédentaire. D'autre part, l'entraînement en endurance provoque des adaptations du système cardiorespiratoire qui se manifestent par une augmentation de la consommation

maximale d'oxygène ($VO_2\text{max}$), une amélioration des performances cardiaques (VES et QC) et une augmentation de la VFC à l'effort (Billat et al. 1999 ; Buchheit et al. 2007 ; Carter et al. 2003 ; Mandigout et al. 2002 ; Rosenwinkel et al. 2001 ; Spina 1999 ; Young 1999). Ainsi, une étude réalisée chez 39 sujets adultes a montré une augmentation significative de la puissance spectrale en HF (parasympathique) et de $VO_2\text{max}$ après 8 semaines d'entraînement à raison de 6 sessions par semaine entre 70% et 80% de la FCmax (Hautala et al. 2003).

Après un exercice d'endurance (marathon) chez des athlètes entraînés, le rapport LF/HF a tendance à être plus élevé, par augmentation prolongée de la puissance spectrale des LF ; ces résultats suggèrent que l'activité sympathique peut persister jusqu'à 24 heures après un exercice d'endurance extrême, comme un marathon (Danilowicz et al. 2005). Chez l'enfant, l'effet bénéfique de l'entraînement aérobie sur la VFC a été mis en évidence. En effet, Mandigout et al en 2002 ont observé une augmentation de la VFC chez des enfants pré-pubères après un entraînement de 13 semaines à raison de trois séances de 60 minutes à une intensité supérieure à 80% de la FCmax ; les paramètres SDNN, LF (ms^2), HF (ms^2) ont significativement augmenté par rapport aux valeurs de base. Cependant, l'augmentation importante des charges d'entraînement peut conduire au syndrome de surentraînement qui se manifeste par une diminution de la VFC et une augmentation de l'activité sympathique au repos (Figure 22) (Uusitalo et al. 2000). Ainsi, la VFC est un outil fiable de détection de l'état d'entraînement et des pathologies cardiaques chez l'homme (Efremov et al. 2014 ; Souza Neto et al. 2003 ; Task Force 2006).

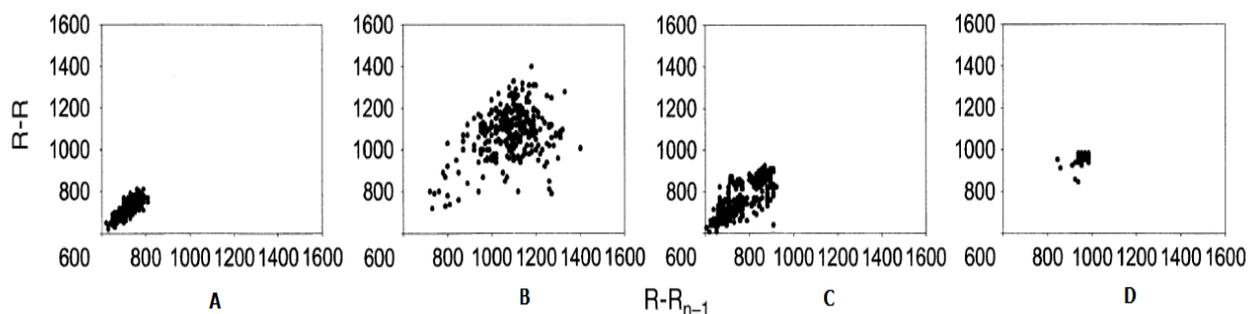


Figure 22 : Variabilité cardiaque illustrée par un Poincaré plot. A: Sujet considéré comme sédentaire. B: Dispersion de SD1 et SD2 relativement importante. Ce sujet est considéré comme un sujet ayant une activité physique régulière. C: Répartition moins importante des indices SD1 et SD2, ce qui peut être considéré

comme un sujet souffrant de syndrome de surentraînement. D: athlète sévèrement atteint de syndrome de surentraînement (*Mourot et al. 2004*).

✓ Chez le cheval

La FC est un paramètre recommandé pour détecter précocement une bonne aptitude physique chez le cheval (*Auvinet et al. 1991 ; Fraipont et al. 2012 ; Valette et al. 1992*). En effet, les chevaux qui présentent une FC basse pendant un test d'effort réalisent les meilleures performances (*Marsland et al. 1968*). D'autre part, *Auvinet et al. en 1991* ont montré que la FC max enregistrée pendant une course au trot semble corrélée au résultat de la course. Chez le cheval, la fréquence cardiaque diminue la nuit. Les puissances spectrales des LF et des HF ont tendance à être plus élevées la nuit tandis que, le ratio LF/HF est presque le même tout au long de la journée (*Kuwahara et al. 1999*). La VFC augmente au pas par rapport au repos complet. Ainsi, les chevaux sont plus détendus au cours des exercices modérés que lorsqu'ils restent immobiles ou pendant l'exercice anaérobie. (*Kinnunen et al. 2006*). Plusieurs études (*Cottin et al. 2005, 2006 ; Physick-Sheard et al. 2000 ; Thayer et al. 1997 ; Voss et al. 2002*) ont montré une baisse de la VFC en fonction de l'intensité de l'exercice par le retrait de la composante parasympathique et l'activation de la composante sympathique pendant un exercice progressif. Le changement des puissances spectrales (LF et HF) a été observé entre 120 et 130 bpm pendant un exercice progressif chez le cheval (*Physick-Sheard et al. 2000*). D'autre part, l'étude de *Cottin et al. en 2006* sur l'effet de la répétition d'un exercice intense chez le trotteur a montré une diminution de la VFC (SD1/SD2) avec la répétition d'effort. Ainsi, l'augmentation de la FC conjuguée à celle de la fHF (fréquence respiratoire) au cours de l'effort apporte des informations sur l'apparition de la fatigue chez le trotteur.

Les fonctions cardiovasculaires sont également perturbées par la déshydratation pendant les épreuves de longue durée (*Buono et Sjöholm. 1988*). Après une course d'endurance, une diminution de la fonction systolique ventriculaire gauche a été observée chez des chevaux performants (*Amory et al. 2010*).

L'entraînement du cheval a pour effet général de diminuer la FC de repos, la FC de récupération ainsi que la FC pendant un exercice sous-maximal (*Kuwahara et al. 1999 ; Marsland et al. 1968*). Pour une intensité d'effort donnée, la FC est d'autant plus basse que le cheval est entraîné (*Couroucé et al. 2002*).

L'entraînement provoque une augmentation des indices de la VFC représentée par une augmentation de la variabilité à court terme de la FC et notamment du contrôle cardiaque parasympathique (RMSSD et puissance spectrale des HF) (*Carter et al. 2003*) avec une hypertrophie cardiaque (*Young et al. 1999*). Cependant, une étude réalisée chez 24 trotteurs âgés de 2 ans a montré une baisse de la FC de repos et une augmentation de la puissance spectrale de LF et de ratio LF/HF après 7 mois d'entraînement, alors que la puissance spectrale de HF n'est pas modifiée. (*Kuwahara et al. 1999*). L'effet de l'entraînement sur la FC et la VFC semble être similaire chez l'homme et chez le cheval et se manifeste par une baisse de la FC et une augmentation des indices de VFC.

3.4. La récupération cardiaque chez le cheval

Sur les épreuves d'endurance équestre, l'élimination d'un cheval est automatique si sa FC est supérieure à une valeur seuil (64 bpm) dans les 20 à 30 minutes après son arrivée (*FEI 2014*). L'élévation des fréquences cardiaques de récupérations (FCR) est le reflet le plus précoce d'une souffrance physiologique, et constitue donc un critère d'alerte important (*Robert et al. 2002*). La vitesse de récupération des chevaux et la baisse de la FCR en dessous de 64 bpm, au cours des périodes de récupération (vetgate) sont influencées par plusieurs facteurs, tels que la race des chevaux, l'âge, le niveau d'entraînement, le stress de transport, la qualité des soins à l'arrivée, le refroidissement ... (*Barnes et al. 2010 ; Bitschnau et al. 2010 ; Kuwahara et al. 1999 ; Marsland et al. 1968 ; Nagy et al. 2010, 2014 ; Ohmura et al. 2012b*). En effet la FCR est affectée par le retrait du système sympathique et la réactivation parasympathique à l'arrêt de l'exercice (*Cottin et al. 2006 ; Hada et al. 2006*). D'une façon générale, l'évolution type de la courbe de récupération cardiaque chez le cheval après un effort intense comporte trois phases (Figure 23) :

- Une première phase de décélération rapide d'une durée d'environ 5 minutes. Cette phase de récupération rapide est la plus significative de l'état d'entraînement (*Valette et Bedu 1990*).
- La deuxième phase est plus lente et dure 5 à 10 minutes. La décélération de la FC est d'environ 2,5 bpm par minute (*Marsland 1968*).
- La troisième phase correspond au retour à la FC de repos et c'est la plus lente (plus de 10 min).

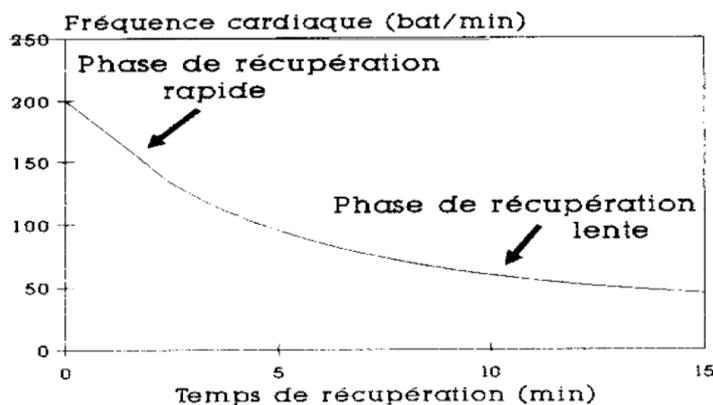


Figure 23 : Forme générale de la courbe de récupération cardiaque. (Valette et Bedu 1990)

Plusieurs études réalisées chez le cheval (Agüera et al. 1995 ; Bitschnau et al. 2010 ; Hada et al. 2006 ; Kinnunen et al. 2006 ; Madsen et al. 2014 ; Munster et al. 2014a, 2014b) ont montré l'effet bénéfique de l'entraînement sur la récupération cardiaque. Ainsi, une baisse significative de la FCR et du temps de récupération cardiaque (TRC) a été observée chez des trotteurs après 11 semaines d'entraînement. Cette réduction a été attribuée à une amélioration de la capacité aérobie ($VO_2\max$) et une augmentation de tonus vagal (Hada et al. 2006).

Une autre étude réalisée chez 12 chevaux d'endurance a montré que le TRC augmente en fonction de l'intensité de l'effort effectué et le TRC a tendance à être plus court chez les chevaux de niveau supérieur (Madsen et al. 2014). Ainsi, chez des chevaux entraînés, la récupération rapide a été associée à une VFC élevée par rapport à des chevaux non entraînés (Kinnunen et al. 2006).

Chez l'homme, une étude comparée de deux groupes (marathoniens vs sédentaires) a montré que la récupération rapide des marathoniens après l'exercice est associée à un niveau élevé de la VFC et de $VO_2\max$ par rapport au groupe de contrôle (Du et al. 2005). D'autre part, une forte relation a été établie entre la vitesse de récupération, la $VO_2\max$ et la VL4 chez l'homme (Tomlin et Wenger 2001). D'autres études (Borresen et Lambert 2008 ; Javorka et al. 2002 ; Raczak et al. 2006 ; Rosenwinkel et al. 2001 ; Sztajzel et al. 2008 ; Tian et al. 2006 ; Uusitalo et al. 2000) ont montré que l'entraînement en général

provoque une amélioration du tonus vagal ce qui se traduit par une récupération cardiaque plus rapide après l'exercice.

L'effet bénéfique de l'entraînement sur la FCR et le TRC est bien documenté chez l'homme ainsi que chez le cheval. Cependant d'autres facteurs (vitesse de course, âge, génétique, dopage ...) peuvent influencer la récupération cardiaque chez le cheval d'endurance.

Rappel de l'objectif de la thèse

Cette thèse a pour finalité de préciser un aspect phénotypique favorable à la performance en course d'endurance équestre à partir de l'analyse des variations de l'activité cardiaque (FC et VFC) au repos, à l'effort et pendant la récupération. Par ailleurs, l'étude a également pour objectif de mettre en évidence les effets sur la fonction cardiaque de certaines molécules utilisées pour améliorer la performance en course d'endurance afin de proposer des mesures de détection. Ce travail s'articulera en cinq parties correspondant chacune à une publication scientifique soit acceptée, soumise ou en préparation :

Etude 1 : Étude du temps de récupération et des facteurs influençant la récupération : exploitation des fichiers de données sur 120 courses d'endurance (2007-2011).

Etude 2 : Estimation du risque d'élimination en course d'endurance à partir de l'analyse de la vitesse et du temps de récupération cardiaque.

Etude 3 : Estimation de l'héritabilité des facteurs cardiaques en course d'endurance.

Etude 4 : Analyse de la variabilité de la fréquence cardiaque (VFC) au cours du repos, de l'effort et de la récupération chez des jeunes chevaux d'endurance.

Etude 5 : Effet des bêta-bloquants et des Alpha-2-agonistes sur la variabilité cardiaque au repos et post effort chez le cheval.

Contribution personnelle : Publications scientifiques

1. Étude du temps de récupération et des facteurs influençant la récupération : exploitation des fichiers de données sur 120 courses d'endurance (2007-2011)

1.1. Résumé

Sur les épreuves d'endurance à vitesse libre de 80 km ou plus, environ la moitié des chevaux partants sont éliminés lors d'un des contrôles vétérinaires pendant la course et il semble que cette proportion ait tendance à augmenter avec les vitesses de course. L'objectif de cette étude était d'étudier les différents profils de course des chevaux classés et éliminés afin de proposer des moyens de prévention.

Pour cela, les valeurs de vitesse moyenne (V.moy), temps de récupération cardiaque (TRC) et fréquence cardiaque de récupération (FCR) ont été analysées chez 7 032 chevaux classés (Q) ou éliminés (EL) pendant des épreuves de 80 km à 160 km.

La comparaison des Q et des EL montre que les chevaux les plus rapides sur la course présentent un risque plus élevé d'être éliminés pour boiterie ; les chevaux éliminés pour troubles métaboliques quant à eux mettent plus longtemps à récupérer aux contrôles vétérinaires (vet-gates) et présentent des valeurs de FCR plus élevées.

Afin de réduire les éliminations, les cavaliers doivent donc adapter leur vitesse de course aux capacités et au niveau d'entraînement de leur cheval. Par ailleurs, les critères de récupération, notamment le TRC, devraient être pris en compte systématiquement lors des contrôles vétérinaires car ils constituent de bons marqueurs du risque d'élimination pour trouble métabolique.

Mots clés : Endurance, Vitesse, recuperation cardiaque, elimination, déshydratation, troubles métaboliques

1.2. Publication

Speed, cardiac recovery and epidemiologic analysis of risk for elimination in long-distance equestrian endurance rides (80-160 km)

Mohamed YOUNES*, UBIAE, Inserm U902, Université d'Evry Val d'Essonne, mohamed7.younes@gmail.com

Eric BARREY, UBIAE, Inserm U902, INRA, GABI, UMR1313 - Université d'Evry Val d'Essonne, eric.barrey@inserm.fr

François COTTIN, UBIAE, Inserm U902, Université d'Evry Val d'Essonne, francois.cottin@free.fr

Céline ROBERT, INRA, GABI, UMR1313 - Université Paris-Est, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, crobert@vet-alfort.fr

***Corresponding author**

STATUT: en préparation pour soumettre à Comparative Exercise

Physiology.

Younes M., Robert C., Cottin, F., Barrey E. (2013) Y-a-t-il une relation entre la vitesse, la récupération cardiaque et le risque d'élimination en course d'endurance de longue distance (80 à 160 km)? Compte-rendu de la 39^{ème} Journée de la Recherche Equine (Paris), 18-27.

Robert C., Younes M., Cottin, F., Barrey E. (2013) Fréquence cardiaque, temps de récupération cardiaque et vitesse : des critères très pertinents lors de l'examen d'un cheval d'endurance. Compte-rendu des 41^{èmes} Journées AVEF, Deauville, 11-13 décembre 2013, 282-283.

Abstract

Background:

About half of the horses starting a long distance endurance ride are eliminated at a veterinary control. Lameness and metabolic disorders are the most common causes of elimination during the rides. The proportion of horses eliminated seems to increase with increasing racing speeds in poor trained horses. This proportion of elimination varies with race country, ride distance, the age of the horse and environmental conditions.

The aim of this work was to investigate changes in racing variables in relation with the reasons for elimination in order to propose prevention solutions. Data from the electronic timing for 7033 horses entered in 80 to 160 km endurance rides in 4 countries were collected. For each horse, the available information was ride distance, age, average speed, cardiac recovery time and heart rate measured at vet-gate for each phase of the race, the outcome of the race – Qualified (Q) or Eliminated (EL) - and for eliminated horses the reason and phase of elimination. Analyses of variance were used to compare the evolution of recorded parameters in Q and EL horses at each phase the ride.

Results:

The statistical analysis showed that 39% of all started horses were eliminated, most of them for lameness (64.47%) or for metabolic reasons (14.34%), mainly during the second and third phases of the race. Statistically significant differences were detected for the average speed, cardiac recovery time and recovery heart rate between qualified and eliminated horses and depending on ride distance, age category and race country. The fastest horses showed a higher risk for being eliminated for lameness. The cardiac recovery time and the heart rate were increased in horses eliminated for metabolic disorder.

Conclusions:

Heart rate recovery criteria and speed appear to be good indicators of the risk of elimination for metabolic disorder or lameness during endurance rides. These

variables should be considered at each vet-gate by veterinarians on regular basis in addition to results of the physical examination.

Keywords:

Endurance, horse, speed, heart rate, cardiac recovery, elimination, metabolic disorder, dehydration.

Background:

Endurance riding is an international equestrian sport based on controlled long-distance rides. It is one of the international competitions recognized by the FEI from 1982. In 1998, the first World Championships were held in the United Arab Emirates (UAE). Since then, the number of entries in endurance rides has been consistently increasing in the world (more than four times) [1]. Endurance races (80-160km) are divided into phases of approximately 30-40km; after each phase, horses are stopped for a veterinary inspection called "vet-gate". The heart rate (HR) is the first criterion evaluated at vet-gates (Figure 1). The acceptable HR for a horse to be considered fit to continue the ride is typically 64 bpm or less within 20 minutes of recovery time depending on the level of the event [2]. During the recovery time, the support crew uses various methods of cooling to accelerate HR recovery of the horses to pass quickly the veterinary inspection. The time spent at each vet-gate prior to inspection by the vets is counted as part of the overall competition time. Any horse deemed unfit to continue (due to lameness or excessive fatigue, for example) is eliminated and stops the ride immediately.

In recent years, elimination rates seem to have increased [3] which is worrying to ethical sport and for the image of this discipline. Lameness, dehydration and metabolic disorders are the main causes of elimination during the 160 km-rides [4]. The elimination rates at endurance rides vary with the geographical region where the ride is held [5]. Eliminations for metabolic disorders occur more frequently in hot and humid countries [6]. However, lameness is the most common cause for elimination in all countries [7]. Several studies [8,3] explained that hard track or sudden changes of track with high speed can lead to high elimination rates for lameness. A recent study performed on 4326 entries in major endurance countries, showed an elimination rate of 54%, firstly (69.2%) for lameness, then for metabolic reason (23.5%) [8]. Different genes

expressions were found between eliminated and qualified horses with many gene modulations in leucocytes explaining the clinical phenotype in eliminated horses [9].

The measure of the heart rate prior to the ride has been recommended to evaluate the physical capacity of the horse to race [10]. Several studies showed a significant correlation between the heart rate during a field exercise test and the best race time [11,12,13]. A significant correlation between the heart rate 30 minutes after a ride and various plasma biochemical measurements has been demonstrated [7]. Physical training reduces the recovery time by improving the parasympathetic function after exercise and increasing the aerobic capacity [14,15]. The beneficial effect of training on recovery HR is known among race horses (thoroughbreds and standardbreds) but there is little information available in the endurance horse while the cardiac recovery time plays an important role in the classification of horses in endurance races.

We hypothesized that classified and eliminated horses would present different cardiac performance and consequently different ride profiles. The identification of potential risk profiles could result in a new judgment criterion to be used at vet-gates to detect unfit horses earlier in the ride.

The aim of this study was to investigate the evolution of the speed, the cardiac recovery time and the heart rate measured at vet-gate in relation with the outcome of the ride (qualified or eliminated), the causes of elimination, country and age category. This epidemiological study was performed in 7033 horses that participated in 80 to 160 km endurance races. We identified the profiles associated to high elimination rate and propose solutions of prevention during the race.

Methods

Data collection

All data from endurance rides were obtained from the records of electronic timing made by the ATRM Systems Company [16] between 2007 and 2011. Events on two or three days, rides less than 80 km long and redundant data were not retained for further analysis. No other selection criteria were chosen to constitute the database. Data from a total of 7033 horses engaged in national and international events from 80 to 160km in four countries, France (FRA – 72.14%),

United Arab Emirates (UAE – 14.7%), Spain (ESP – 11.5%) and Portugal (PORT – 1.56%) were analyzed. The missing data for some horses (age, phase and cause for elimination) were supplemented using the FEI website database [17].

Data recorded

Data available for all horses were the following: event, country, ride distance, rider and horse identity, classification, possibly reason and phase for elimination, average speed (AS) on each phase, cardiac recovery time (CRT) and heart rate (HR) at each Vet-gate inspection.

The CRT was calculated as the difference between the arrival time and the time of presentation to veterinary inspection (= "time in" for the FEI endurance rules). When two HR values were available at the same inspection (Ridgway test), only the first value (=measured before trotting) was considered for further analysis.

At the end of the ride, the horses were divided into two groups, qualified (Q) if they had finished the ride and passed all the inspections and examinations, or eliminated horses (EL). Reasons for elimination could be the following [2]:

- Lameness (LA) if the horse had been judged by the veterinary panel to be consistently lame;
- Metabolic (ME) for horses that failed to qualify for metabolic reason, i.e. that did not meet the required heart rate parameters for the star level of the event, or did not show metabolic stability and soundness;
- Retirement (RET) for horses voluntarily withdrawn from competition by their rider after the combination has completed its most recent phase by passing all required veterinary inspections following that phase;
- Elimination (OR) for horses removed from competition for other reasons than those listed above.

Other adjustment criteria considered in this study were categorized in 3 categories as follows:

- Distance of the ride: 1 Star for rides of 80 to 119 km in one day (31.55%), 2 Stars for rides of 120 to 139 km in one day (50.5%) and 3 Stars for rides of 140 to 160 km in one day (17.95%);
- Age of the horse: young (6-8 years), intermediary (9-11 years) and old (12-19 years);
- Country: FRA, ESP-POR and UAE.

Statistical analysis

Several statistical methods of the software NCSS 2007 were used to study the relationship between the variables registered and the issue of the ride (Q, EL).

First, a descriptive analysis (means, standard deviations) and a normality test of variables were realized. Second, an analysis of correlations test was performed to study the relationship between the quantitative variables recorded. Data of the qualified (Q) and eliminated (EL) horses was separately analyzed. Third, data were analyzed using an analysis of variance (GLM with comparison LSD) to study the effects of the age categories, distance, countries of ride and elimination causes on variables AS, CRT and HRR at each phase of the ride. Statistical significance was set at $P < 0.05$.

Results

Elimination rate and classification

Of the 7033 starting horses, 2740 (39%) were eliminated (EL), 64.47% for lameness (LA), 14.34% for metabolic reasons (ME), 15.21% for retirement (RET) and 5.94% for other reasons (OR) (Table 1). Most elimination (60%) occurred during second or third Vet-gate (Table 2).

Variations in the average speed, cardiac recovery time and recovery HR with place status (Q and EL) according to the category of racing distance

The AS was significantly faster for middle distance rides (120-139 km) than for the shorter (80-119 km) or longer (140-160 km) rides ($P < 0.001$). The AS was slightly ($p < 0.05$) higher for EL than Q on 2 Star rides, but for other distance categories (80-119 km and 140-160 km) the Q have a higher AS than EL (Table 3).

Whatever the distance of the ride, the mean CRT was significantly higher ($P < 0.0001$) for EL than Q at each phase of the ride. The CRT was significantly higher ($P < 0.0001$) on 1 star rides (Q=5min19s, EL=8min07s) than on 2 star (Q=4min28s, EL=6min28s) and in 3 star rides (Q=4min04s, EL=6min12s).

The HR was significantly higher ($P < 0.0001$) for 3 star rides (Q=58.51 bpm, EL=59.63 bpm) than on 1 star (Q=55.68 bpm, EL=57.43 bpm) and in 2 star

rides (Q=57.75 bpm, EL=58.92 bpm) (Table 3). For all distance categories and each phase of the ride, the EL have a higher recovery HR ($P<0.001$) than Q horses (Figure 2).

Variation in the average speed, cardiac recovery time and recovery HR according to the reason for elimination

During the ride, the AS varied according to the reasons for elimination. AS was significantly higher ($P<0.001$) in lame eliminated horses (18.04 ± 2.78 km/h) than in metabolic eliminated horses (17.4 ± 3.2 km/h) and retired horses (17.42 ± 3.4 km/h). The CRT was higher ($P<0.0001$) in ME (8min32s \pm 5min) than in other eliminated horses (LA=5min12s \pm 3min24s and RET=6min35s \pm 3min28s) at each vet-gate. The mean HR was also significantly higher ($P<0.001$) in ME (61.75 ± 5.3 bpm) than LA (57.28 ± 4.5 bpm) and RET (57.99 ± 4.5 bpm) horses. The HR for ME increased at each phase of the ride and exceeds the elimination threshold (64 bpm) in the two last phases of the ride. The recovery HR for LA and RET horses increased slightly during the ride with values remaining below the elimination threshold (Figure 3).

Variation of the average speed, cardiac recovery time and recovery HR according to age category

The AS was higher ($P<0.01$) in young horses (17.48 ± 2.2 km/h) than in intermediary (17.68 ± 2.9 km/h) and old horses (17.66 ± 3.5 km/h) throughout the ride. The mean CRT was slightly higher ($P<0.05$) in young horses (4min44 \pm 2min48) than in other age categories (intermediary 4min34s \pm 2min48s and old 4min27s \pm 2min54s). However, the HR was lower ($P<0.0001$) in young horses (56.84 ± 4.4 bpm) than in intermediary (57.38 ± 3.9 bpm) and old horses (57.55 ± 3.9 bpm). There was no difference between the intermediary and old horses.

Variation of the reasons for elimination, average speed, cardiac recovery time and recovery HR according to the race countries

The proportions of elimination for lameness were similar in Europe (FRA, ESP and PORT) and UAE (respectively 25% and 24% of the starters). However the percentage for metabolic eliminations (ME) was higher ($P<0.01$) in the UAE (10.4% of the starts) than in ESP-PORT (5.1%) and France (5.2%) (Table 4).

The AS varied greatly among countries; it was higher ($p < 0.001$) in the UAE (21.63 ± 3 km/h) than in France (15.34 ± 1.7 km/h) and Spain-Portugal (16.32 ± 2 km/h). The HR was lower ($P < 0.001$) in the UAE (55.06 ± 4.6 bpm) than in France (58.6 ± 4 bpm) and Spain-Portugal (59.45 ± 2.7 bpm). The mean CRT was lower ($P < 0.0001$) in Spain-Portugal (5 ± 2 min 42s) than in the UAE (5 min 20 \pm 3 min 54s) and France (5 min 44 \pm 3 min) (Table 5).

Discussion

This is the first statistical study based on data collected on official endurance rides from a large population of horses. The database has a large number of horses, 7033 starters, for different endurance events from 80 to 160 km. A selection bias is present because only the biggest rides or those with a sufficient budget to finance electronic time keeping are represented. The data used here correspond to 25% of all endurance events registered by the FEI between 2007 and 2011. All of them took place in 3 European countries and the UAE; other major endurance countries were not represented (USA, New Zealand, Australia, South America, UK, South Africa, Italy ...). The results presented here are therefore valid only for those countries where they were obtained. They should be verified in the other endurance countries, especially those with a different climate.

Several studies [8,3] evoked the risk associated with a higher speed during endurance rides, but it is the first one to demonstrate a relationship between the racing speed, the CRT and the risk of elimination. Our results show that 39% of all horses were eliminated, lameness (64.47%) and metabolic reasons (14.34%) being the most frequent causes of elimination in all countries. The overall proportion of elimination is intermediate between those reported in the literature varying from 18.9% [18] to 54% [8]. These different percentages of elimination can be explained by different numbers of starts, various countries or ride distances; but for all studies, lameness was the most frequent cause of elimination in endurance rides with 69.2% LA / 23.5% ME [8] and 52% LA / 24.5% ME [18].

The long distance endurance ride (80-160km) leads to the use high energetic reserve and may cause metabolic disruptions, these alterations depending on the distance and exercise intensity during the ride. For example, a 100-km at moderate exercise intensity ride, leads to a large energy expenditure equivalent

to 32 UFC (1UFC=2200 kcal), with a low blood lactate level, which suggests that this energy is mainly provided by the aerobic metabolism with mobilization of body fat [19]. However the high speed increases energy depletion with a greater involvement of the anaerobic system; this reduces the holding time of exercise and accelerates metabolic exhaustion. It has been shown that horses racing at the fastest speed were those with the highest branched chain amino acids, phenylalanine and glutamate levels and protein degradation in the muscle after the ride [20]. Another study [21] showed that uric acid and creatine kinase levels were higher after a prolonged effort in the fastest and eliminated horses with metabolic problems than slowest and classified horses. The uric acid increase could be due to an impaired energy product [22,23].

The high percentage of eliminations in endurance rides has been explained by several factors: the country where the ride was held, the number of entries in the ride, the year, the distance of the ride, the terrain, the different environmental conditions, training methods and riding styles [5,8]. Another study showed that longer rides, age, increase of heart rate, cardiac recovery index (CRI) and some breeds with higher body mass index (Appaloosas and Quarter Horses) compared with purebred Arabians are associated with an increased risk of elimination during the rides [18].

The present study investigated the possible relationship between average speed, heart rate and cardiac recovery time during the ride and the risk for elimination. For all categories of ride distance, horses eliminated for lameness had an AS significantly higher than horses eliminated for other reasons. There can be two possible explanations: 1) Excessive speed is the direct cause of lameness, horses going faster having more difficulties to manage uneven terrain during the ride; 2) the fastest horse were more fit because they had been previously been more trained but were also more fragile due to small training related musculoskeletal injuries.

Horses eliminated for metabolic problems present higher HR values and a longer CRT than other horses at the first vet-gates. Such a tachycardia could be a warning sign of peripheral and central fatigue. Tachycardia can result from a decrease in heart rate variability and hence low levels of parasympathetic activity with persistence of the sympathetic component [24]. An increase in HR during competition and a decrease in gastrointestinal sounds have already been associated with an increased risk of metabolic failure in endurance horses [18].

The HR is considered as a good indicator of the degree of fatigue during endurance exercise; heart rate monitoring is therefore really important to assess different levels of fitness and cardiac performance [15,25]. In men, endurance training can increase parasympathetic nervous system activity and HR recovery is faster in highly trained individuals [26,27]. However the recovery HR is an independent prognostic indicator for cardiovascular disease and all-cause mortality in healthy men [28]. Training and good speed management would limit the fluid and electrolyte imbalances by the improvement of the metabolic, cardiac and aerobic capacities of horses during the ride [29,30,6,14,15]. It is necessary to adjust speed to save energy (balance between ATP utilization and ATP regeneration by the Oxphos using metabolites from tricarboxylic acid cycle and β oxidation and to avoid articular and metabolic problems.

The young horses (6-8 years) have a higher average speed during the ride and a higher recovery heart rate than older horses (9 to 19 years). In humans, physical and cardiac performance decline with age because of a decreased vagal tone. However in horses, the decrease in performance of older horses would be rather related to a decrease in thermoregulation capacities during exercise than to an increase in recovery heart rate [31]. Old horses (> 6 years) would have a higher risk for elimination compared with younger horses [19]. Young horses are presumably less exposed to metabolic disorders through a more effective system of thermoregulation. In our study, young horses exhibited a lower HR, associated with a higher CRT; these results could be explained by a more difficult management of the recovery period in novice horses, riders being not yet familiar with the recovery capabilities of their horses and taking more time to enter the vet-gate area.

Eliminations due to metabolic disorders are twice higher in the UAE than in Europe. These high percentages of elimination can be explained by two factors: the climate and an excessive speed during the ride. Horses performing strenuous exercise at endurance rides in hot and humid conditions are more likely to suffer from electrolyte imbalance and dehydration, and then to develop metabolic disorders than in cooler environments [6,32]. In our study, the average speed in the UAE was much higher than in European countries. Surprisingly, despite higher speeds in the UAE, the HR is lower than in the other countries (ESP, PORT and FRA), which is contradictory. The more professional and intensive training

methods or the fast track in the UAE when compared to Europe could promote better recovery. It can also be assumed that the recording methods of HR and CRT are somewhat different in the UAE and in Europe. On the study period (2007-2011), the heart-rate monitor was not routinely used at vet-gates. The CRT can also be artificially lowered when the horse enters the vet-gate area but it is not checked immediately, either because there is no veterinarian available, or because the rider delays presentation to the veterinarian. The strengthening of regulations and standardization of methods of examination should reduce such inequalities between countries in the future. But for now, our study shows that it is difficult to extrapolate the results from one country to another one.

Conclusion

Race profiles are different between horses qualified when compared to horses eliminated during endurance rides. The fastest horses have a high risk for being eliminated for lameness whilst horses with an increased CRT or exhibiting a high HR present a higher risk for metabolic elimination. This study confirms the hypothesis that high speed during the ride increases the risk of elimination due to metabolic problems and lameness. Horses that have higher values of AS, CRT and HR during the ride, present a risk profile and they need to be carefully examined by veterinarians to avoid racing accidents and preserve their health. The CRT and the HR can be considered as good predictive variables of elimination during the ride. The CRT is a very relevant parameter to assess the health of horses and to detect the metabolic profiles during the ride. CRT reflects both the training level and the physical ability of the horse to finish the ride. It should be included systematically in the criteria evaluated at vet-gates.

List of abbreviations

Q: qualified horses

EL: eliminated horses

LA: eliminated for lameness

ME: eliminated for metabolic reason

RET: retired horses

OR: eliminated for other reasons

AS: average speed

CRT: cardiac recovery time

HR: heart rate

Authors' contributions:

MY carried out the preparation of the database, statistical analysis and write the manuscript. EB conceived of the design of the study and performed the statistical analysis and write the manuscript. FC assisted to analyze the heart rate data and draft the manuscript. CR participated in the design of the study, collected the data and write the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgements:

We thank the ATRM team for giving us easy access to their timekeeping data.

References:

1. Federation Equestre Internationale (FEI) [<http://www.fei.org/fei/disc/endurance>]
2. Federation Equestre Internationale (FEI): Endurance rules. 8th Edition. effective 1 January; 2013:29.
3. Marlin DJ, McEwen J, Sluyter F: Completion and treatment rates in modern endurance racing. In *Proceedings of 4th International Equitation Science Conference*: Dublin, Ireland; 2008:67.
4. Barnes A, Kingston J, Beetson S, Kuiper C: Endurance veterinarians detect physiologically compromised horses in a 160 km ride. *Equine Vet J* 2010, 38 (Suppl):6-11.
5. Nagy A, Murray JK, Dyson SJ: Descriptive epidemiology and risk factors for eliminations from Fédération Equestre Internationale endurance rides due to lameness and metabolic reasons (2008-2011). *Equine Vet J* 2013, ISSN 0425-1644.
6. Flaminio MJ, Rush BR: Fluid and electrolyte balance in endurance horses. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract* 1998, 14 (Suppl 1):147-158.
7. Robert C, Benamou-Smith A, Leclerc J.-L: Use of the Recovery Check in long distance endurance rides. *Equine Vet. J* 2002, 34 (Suppl):106-111.
8. Nagy A, Murray JK, Dyson S: Elimination from elite endurance rides in nine countries: a preliminary study. *Equine Vet J* 2010, 42(Suppl 38):637-643.

9. Barrey E, Mucher E, Robert C, Amiot F, Gidrol X: Gene expression profiling in blood cells of endurance horses completing competition or disqualified due to metabolic disorder. *Equine Vet J* 2006, 36 (Suppl):43-49.
10. Valette J.P, Heiles P.H, Wolter R: Multivariate analysis of exercise parameters measured during the training of thoroughbred racehorses. *Pferdeheilkunde* 1996, 12:470-473.
11. Rivera E, Benjamin S, Nielsen B, Shelle J, Zanella A.J: Behavioral and physiological responses of horses to initial training: the comparison between pastured versus stalled horses. *Applied Animal Behaviour Science* 2002, 78:235-252.
12. Evans DL, Harris RC, Snow DH: Correlation of racing performance with blood lactate and heart rate after exercise in thoroughbred horses. *Equine Vet J* 1993, 25 (Suppl 5):441-5.
13. Evans DL: Physiology of equine performance and associated tests of function. *Equine Vet J* 2007, 39 (Suppl 4):373-383.
14. Hada T, Ohmura H, Mukai K, Eto D, Takahashi T, Hiraga A: Utilisation of the time constant calculated from heart rate recovery after exercise for evaluation of autonomic activity in horses. *Equine Vet J* 2006, 36 (Suppl):141-145.
15. Bitschnau C, Wiestner T, Trachsel DS, Auer JA, Weishaupt MA: Performance parameters and post exercise heart rate recovery in Warmblood sports horses of different performance levels. *Equine Vet J* 2010, 38 (Suppl):17-22.
16. The ATRM Systems Company [<http://www.atrm-systems.fr/index0fr.htm>]
17. Federation Equestre Internationale (FEI): Veterinary regulations. 13rd Edition, effective 1 January 2013:39-84.
18. Fielding CL, Meier CA, Balch OK, Kass PH: Risk factors for the elimination of endurance horses from competition. *J. Am. Vet. Med. Assoc* 2011, 239(Suppl 4):493-498.
19. Barrey E: A software simulation of energy expenditure in competing horses. *Science & Sports* 1993, 8 (Suppl 2):109-115.
20. Essén-Gustavsson B, Jensen-Waern M: Effect of an endurance race on muscle amino acids, pro- and macroglycogen and triglycerides. *Equine Vet J* 2002, 34 (Suppl):209-213.
21. Castejón F, Trigo P, Muñoz A, Riber C: Uric acid responses to endurance racing and relationships with performance, plasma biochemistry and metabolic alterations. *Equine Vet J* 2006, 36 (Suppl):70-73.
22. Tullson PC, Terjung RL: Adenine nucleotide synthesis in exercising and endurance-trained skeletal muscle. *Am. J. Physiol* 1991, 261 (Suppl 2):342-347.
23. Tullson PC, Bangsbo J, Hellsten Y, Richter EA: IMP metabolism in human skeletal muscle after exhaustive exercise. *J. Appl. Physiol* 1995, 78 (Suppl 1):146-152.
24. Cottin F, Barrey E, Lopes P, Billat V: Effect of repeated exercise and recovery on heart rate variability in elite trotting horses during high intensity interval training. *Equine Vet J* 2006, 36:204-209.

25. Rose RJ, Hendrickson DK, Knight PK: Clinical exercise testing in the normal thoroughbred racehorse. *Aust. Vet. J* 1990, 67 (Suppl 10):345-348.
26. Hagberg JM, Hickson RC, Ehsani AA, Holloszy JO: Faster adjustment to and recovery from submaximal exercise in the trained state. *J Appl Physiol* 1980, 48 (Suppl 2):218-224.
27. Javorka M, Zila I, Balhárek T, Javorka K: Heart rate recovery after exercise: relations to heart rate variability and complexity. *Braz J Med Biol Res* .2002, 35 (Suppl 8):991-1000.
28. Cole CR, Blackstone EH, Pashkow FJ, Snader CE, Lauer MS: Heart-rate recovery immediately after exercise as a predictor of mortality. *N. Engl. J. Med* 1999, 341 (Suppl 18):1351-1357.
29. Foreman JH: the exhausted horse syndrome. *Vet.Clin.N.Am. Equine Pract* 1998, 14:205-219.
30. Robert C, Goachet AG, Fraipont A, Votion DM, Van Erck E, Leclerc JL: Hydration and electrolyte balance in horses during an endurance season. *Equine Vet J* 2010, 38 (Suppl):98-104.
31. McKeever KH, Eaton TL, Geiser S, Kearns CF, Lehnhard RA: Age related decreases in thermoregulation and cardiovascular function in horses. *Equine Vet J* 2010, 38 (Suppl):220-227.
32. Marlin DJ, Scott CM, Schroter RC, Mills PC, Harris RC, Harris PA, et al: Physiological responses in nonheat acclimated horses performing treadmill exercise in cool (20 degrees C/40% RH), hot dry (30 degrees C/40% RH) and hot humid (30 degrees C/80% RH) conditions. *Equine Vet J* 1996, 22 (Suppl):70-84.

Figure legends:

Figure 1. Schematic drawing of an endurance race. The ride is divided into phases of 30-40 km followed by 40 to 50 minutes rest periods. Horses are checked by veterinarians between each phase at vet-gates (VG). The heart rate shall be less than or equal to 64 bpm at presentation at VG. The time spent at each VG (Recovery time = RT) is counted as part of the overall competition time.

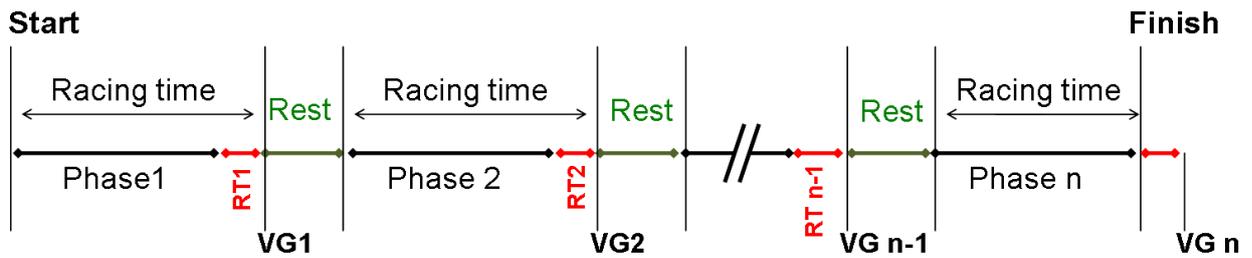


Figure 2. Mean (standard deviation) of Recovery Heart Rate of the Qualified (Q) and the Eliminated (EL) horses for each phase of the ride. * Significant difference between Q and EL at $P < 0.05$.

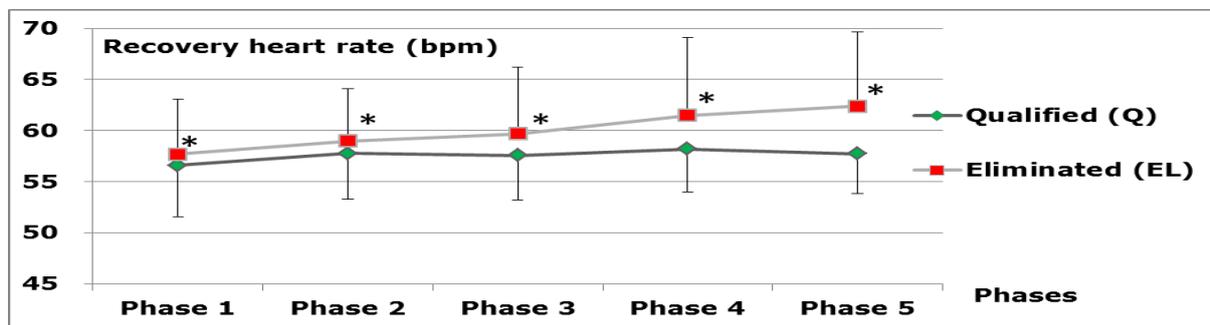
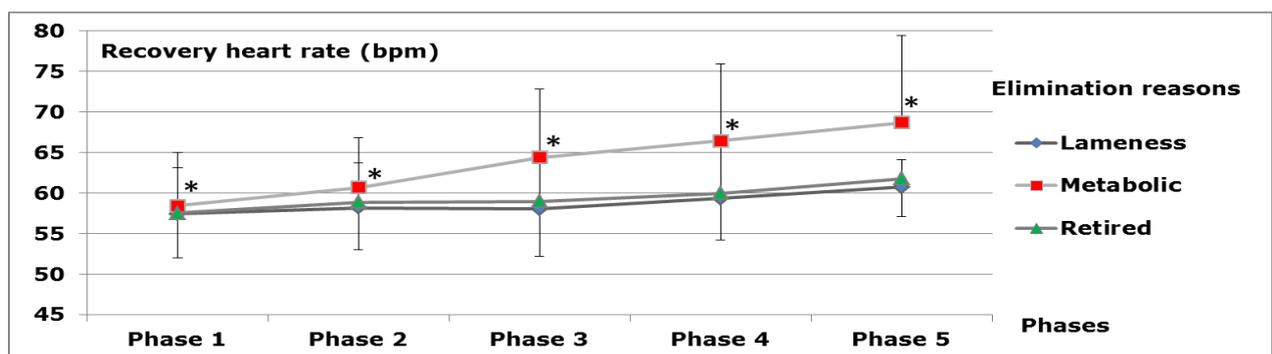


Figure 3. Mean (standard deviation) variation of the Recovery Heart Rate according to the reason for elimination for each phase of the ride. * Significant effect at $P < 0.05$.



Tables and captions

Table 1: Distribution of horses according to the outcome of the race and the reason for elimination

H o r s e s	Outcome of the race		Reason for elimination			
	Qualifi ed	Eliminat ed	Lamenes s*	Metabol ic	Retire d	Other reaso ns
Number	4293	2740	1766	393	417	163
Percentage	61%	39%	64.47%	14.34%	15.21 %	5.94 %

* Significant difference at $p < 0.001$; **bold characters** = highest values.

Table 2: Distribution of eliminated horses depending on the phase they were eliminated

E L H o r s e s	Phase 1	Phase 2*	Phase 3*	Phase 4	Phase 5	Phase 6
Number	384	693	950	430	170	113
Percentage	14%	25.29%	34.67%	15.69%	6.2%	4.12%

* Significant difference at $p < 0.001$; **bold characters** = highest values.

Performance	Distance categories					
	80-119 km (1 star)		120-139 km (2 stars)		140-160 km (3 stars)	
	Q	EL	Q	EL	Q	EL
AS (km/h)	17.63 (2.3) b #	17.39 (2.6) c'	17.98 (3) a #	18.05 (3.4) a'	17.52 (1.83) c	17.39 (1.61) b'

CRT (min:ss)	5:19 (2:48) a #	8:07 (4:42) a'	4:28 (2:01) b #	6:28 (3:24) b'	4:04 (1:42) c #	6:12 (3:36) c'
HR (bpm)	55.68 (4.2) c	57.43 (5.5) c'	57.75 (3.3) b	58.92 (4.7) b'	58.51 (2.1) a	59.63 (3.2) a'

Table 3: Variation of the average speed, cardiac recovery time and recovery heart rate according to the outcome of the race for different race distance categories.

AS: average speed. CRT: cardiac recovery time. HR: heart rate. Q: qualified. EL: Eliminated. Significant effect of the distance category; the means followed by different letters are significantly different at $P < 0.05$: a, b, c for mean test within (Q) on the same line; a', b', c' for mean test within (EL) on the same line. # Significant difference between Q and EL within the same distance categories.

Table 4: Distribution of the reasons for elimination within all starting competitors according to the country

Country	Reason for elimination (%)			
	Lameness (LA)	Metabolic (ME)	Retirement (RET)	Other Reasons (OR)
France	25.3 a	5.2 b	5.2 b	1.8 c
Spain-Portugal	25.3 a	5.1 b	5 b	2.7 b
UAE	24.1 a	10.4 a	8 a	4.5 a

Significant effect of the country: the percentage followed by two different letters (a, b, c) in the same column are significantly different at $P < 0.0001$. UAE: United Arab Emirates.

Table 5: Variation of the average speed (AS), cardiac recovery time (CRT) and recovery heart rate (HR) according to the country.

Country	Performance		
	AS (km/h)	CRT (min:ss)	Recovery HR (bpm)
France	15.34 (1.7) c	5:44 (3) a	58.6 (4) b
Spain-Portugal	16.32 (2) b	5:00 (2:42) c	59.45 (2.7) a
UAE	21.63 (3) a	5:20 (3:54) b	55.06 (4.6) c

Significant effect of the country: the means followed by two different letters (a, b, c) in the same column are significantly different at $P < 0.05$. UAE: United Arab Emirates. AS: average speed. CRT: cardiac recovery time. HR: heart rate.

1.3. Conclusion de l'article et perspectives

Dans ce travail, nous avons étudié les différents profils de course des chevaux éliminés (EI) et classés (Q). Cela, par l'étude des variations des paramètres de course (Vitesse, FCR et TRC) en fonction des différentes catégories (Classement, causes d'élimination, âge, distances, pays) chez 7032 partants en course d'endurance. Les analyses des données ont permis de distinguer un profil particulier des chevaux à risque. Les chevaux éliminés courent à des vitesses élevées et mettent plus de temps à récupérer (TRC) avec des valeurs de FCR élevées par rapport aux chevaux classés.

Par ailleurs, la performance des chevaux sur les courses (Vitesse, TRC et FCR) peut être influencée par plusieurs facteurs tels que les conditions environnementales (Nagy et al. 2014 ; Marlin et al. 2002).

Cette étude, est la seule dans la littérature à avoir étudié les variations des paramètres de course (Vitesse, FCR et TRC) en fonction du classement (EL ou Q). Ainsi, les variables de course (FCR, TRC et la vitesse) peuvent être considérées comme des variables pertinents pour expliquer les éliminations sur les courses d'endurance. Cependant, cette étude ne propose pas des solutions pour diminuer le risque d'accidents sur les épreuves d'endurance.

Afin de proposer des solutions objectives et utiles dans ce sport, nous avons mené une deuxième étude sur la même base de données présentée dans la partie suivante. Dans cette deuxième étude, nous suggérons qu'il est possible de détecter les chevaux qui seront éliminés à posteriori en se basant sur les variables (Vitesse, FCR et TRC) mesurés à l'étape précédente de la course. Les résultats de cette étude permettront de proposer des seuils de prédiction d'éliminations durant les différentes étapes de la course.

2. Estimation du risque d'élimination en course d'endurance à partir de l'analyse de la vitesse et du temps de récupération cardiaque.

2.1. Résumé

Sur les épreuves d'endurance, environ 50% des chevaux sont éliminés au contrôle vétérinaire (Vet-gate). La détection des chevaux à risque avant leur élimination est un véritable défi pour cette discipline, en général et pour les vétérinaires, en particulier. Dans cette étude, nous suggérons qu'il est possible de détecter les chevaux qui seront éliminés à posteriori en se basant sur les paramètres cardiaques mesurés à l'étape précédente de la course. L'objectif de cette étude est de trouver des régressions logistiques prédictives de l'élimination des chevaux sur les courses en utilisant la fréquence cardiaque de récupération (FCR), le temps de récupération cardiaque (TRC) et la vitesse au Vet-gate précédent (n-1) la phase d'élimination au Vet-gate (n).

L'ensemble des données a été constituée à partir des courses d'endurance (80-160 km) organisées dans 4 pays (FRA, UAE, POR et ESP). Sur les 7032 partants, 39% des chevaux ont été éliminés (64 % pour boiterie et 15 % pour troubles métaboliques). Les régressions logistiques (RL) incluant les variables mesurées (FCR, TRC et la vitesse) et les catégories de course (age/ou distance) ont été calculées pour chaque Vet-gate (n-1) afin d'estimer le risque d'élimination à l'étape suivante (n). Les RL ont permis de prédire correctement en moyenne 64 à 87% des chevaux éliminés pendant les étapes (2, 3, 4 et 5) des courses. Ces estimations sont validées par des valeurs de surface sous la courbe ROC de 0,68 à 0,84 selon les étapes. Au final, les chevaux qui mettent plus de 11 min aux étapes 1 et 2, et plus de 13 min aux étapes 3 et 4 pour récupérer avec des FC de 64 bpm ont un risque de 70 % d'être éliminés à l'étape suivante.

Les paramètres de récupération (FCR et TRC) et les vitesses mesurées à l'étape (n-1) sont des indicateurs fiables pour estimer le risque d'élimination à l'étape suivante (n). Les paramètres FCR, TRC et vitesse, doivent être pris en considération à chaque contrôle vétérinaire pour mieux détecter les chevaux à

risque. Cette méthode prédictive, pourrait contribuer à réduire le nombre d'accidents sur les courses d'endurance et améliorer le bien-être des chevaux.

2.2. Publication

Speed and Cardiac Recovery Variables Predict the Probability of Elimination in Equine Endurance Events

Mohamed YOUNES^{1*}, Céline ROBERT^{2,3}, François COTTIN^{4,5}, Eric BARREY^{1,2*}

¹UBIAE, Université d'Evry Val d'Essonne, France

²INRA, GABI, UMR1313, Jouy-en-Josas, France

³Université Paris-Est, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, France

⁴EA4532 CIAMS, Université Paris Sud, France

⁵Département STAPS, Université d'Evry Val d'Essonne, France

***Corresponding authors**

eric.barrey@inserm.fr (EB)

Statut: Accépté à PlosOne le 5 juillet 2015

RESEARCH ARTICLE

Speed and Cardiac Recovery Variables Predict the Probability of Elimination in Equine Endurance Events

Mohamed Younes¹, Céline Robert^{2,3}, François Cottin^{4,5}, Eric Barrey^{1,2*}

1 UBIAE, Université d'Evry Val d'Essonne, Evry, France, **2** INRA, GABI, UMR1313, Jouy-en-Josas, France, **3** Université Paris-Est, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Maison Alfort, France, **4** EA4532 CIAMS, Université Paris Sud, Orsay, France, **5** Département STAPS, Université d'Evry Val d'Essonne, Evry, France

* eric.barrey@inserm.fr



CrossMark
click for updates

 OPEN ACCESS

Citation: Younes M, Robert C, Cottin F, Barrey E (2015) Speed and Cardiac Recovery Variables Predict the Probability of Elimination in Equine Endurance Events. *PLoS ONE* 10(8): e0137013. doi:10.1371/journal.pone.0137013

Editor: Ulrike Gertrud Munderloh, University of Minnesota, UNITED STATES

Received: May 18, 2015

Accepted: August 11, 2015

Published: August 31, 2015

Copyright: © 2015 Younes et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

Funding: This work was supported by the Association du Cheval Arabe 2011-2014 and Fond Eperon 2011-2013. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: The author's declare that the ACA provided a research grant of €2000 per year for research expenses as part of the 4-year GenEndurance project. This contribution was compliant with PLOS ONE's policies on sharing data

Abstract

Nearly 50% of the horses participating in endurance events are eliminated at a veterinary examination (a vet gate). Detecting unfit horses before a health problem occurs and treatment is required is a challenge for veterinarians but is essential for improving equine welfare. We hypothesized that it would be possible to detect unfit horses earlier in the event by measuring heart rate recovery variables. Hence, the objective of the present study was to compute logistic regressions of heart rate, cardiac recovery time and average speed data recorded at the previous vet gate (n-1) and thus predict the probability of elimination during successive phases (n and following) in endurance events. Speed and heart rate data were extracted from an electronic database of endurance events (80–160 km in length) organized in four countries. Overall, 39% of the horses that started an event were eliminated—mostly due to lameness (64%) or metabolic disorders (15%). For each vet gate, logistic regressions of explanatory variables (average speed, cardiac recovery time and heart rate measured at the previous vet gate) and categorical variables (age and/or event distance) were computed to estimate the probability of elimination. The predictive logistic regressions for vet gates 2 to 5 correctly classified between 62% and 86% of the eliminated horses. The robustness of these results was confirmed by high areas under the receiving operating characteristic curves (0.68–0.84). Overall, a horse has a 70% chance of being eliminated at the next gate if its cardiac recovery time is longer than 11 min at vet gate 1 or 2, or longer than 13 min at vet gates 3 or 4. Heart rate recovery and average speed variables measured at the previous vet gate(s) enabled us to predict elimination at the following vet gate. These variables should be checked at each veterinary examination, in order to detect unfit horses as early as possible. Our predictive method may help to improve equine welfare and ethical considerations in endurance events.

and materials. All data are available online and as supplementary data. Furthermore, the ACA did not contribute directly to the present retrospective, statistical study.

Introduction

Endurance riding is an international, long-distance equestrian sport that has been regulated by the *Fédération Equestre Internationale* (FEI) since 1982. The first endurance world championships were held in 1998 in the United Arab Emirates (UAE). Since then, the number of entries in endurance events worldwide has increased more than four-fold [1]. Endurance events (ranging from 80 to 160 km in total distance) are split into successive phases of approximately 30–40 km. At the end of each phase, horses are stopped for a veterinary inspection at the "vet gate". The heart rate (HR) is the primary criterion evaluated at the vet gate. For a horse to be considered fit enough to continue the event, its HR must be below 65 bpm within 20 minutes of arrival (although the exact thresholds vary according to the level of the event) [2]. During the recovery period, the support crews use various cooling techniques to shorten the HR recovery time and thus enable the horses to pass the veterinary inspection more quickly. It should be noted that the time interval between arrival at the vet gate and the start of the veterinary inspection is counted as part of the overall riding time. Consequently, rapid cardiac recovery is a key criterion for success in endurance events. Any horse deemed unfit to continue (due to lameness or excessive fatigue, for example) is immediately withdrawn from the event.

Elimination rates appear to have increased over recent years [3]. This is a source of concern for the sport's ethics and image. Lameness, dehydration and metabolic disorders are the main causes of elimination in 160 km events [4]. Elimination rates in endurance events vary from one geographical area to another [5]. For example, eliminations for metabolic disorders occur more frequently in hot and humid countries [6]. However, lameness remains the most common cause of elimination in all countries [5,7,8]. Several studies [3,8] have demonstrated that a combination of hard tracks, sudden changes in track surface and high speed might be associated with high elimination rates for lameness. A recent study of 4326 entries in major endurance events found that the mean elimination rate was 54%—primarily due to lameness (69.2%) and then metabolic reasons (23.5%) [8]. After a 160 km endurance event, an elevated hematocrit and low sodium, chloride and potassium concentrations were observed in both qualified and eliminated horses [9]. On the cardiac level, left ventricular systolic function appears to decrease in horses participating in endurance events [10]. Eliminated and qualified horses have been found to differ in terms of gene expression (particularly in leukocytes), and the clinical phenotype of eliminated horses is associated with an inflammatory/catabolic gene expression profile [11]. Given that a significant proportion (12%) of eliminated horses require emergency medical treatment, the rapid detection of tired horses is a challenge for veterinarians and a key issue in the improvement of equine welfare [3,12].

The HR is a good indicator of stress and health status in horses [13,14,15]. In thoroughbred horses, the HR measured 4 minutes after treadmill exercise was significantly correlated with Timeform ratings [16]. However, the relationship between performance horses and HR variables has not previously been characterized in endurance. Exercise training reduces recovery time by improving parasympathetic function after exercise and increasing aerobic capacity [17,18]. HR recovery after completion of each phase of the event is a key parameter for success in endurance events because the cardiac recovery time (CRT) is taken into account when calculating the average speed (AS) of each phase of the event [2].

Hence, we hypothesized that (i) qualified and eliminated horses differ in terms of their speed profiles and cardiac recovery variables, and (ii) this difference can be used to detect unfit horses and prevent health incidents during endurance events. The objective of the present study was to compute logistic regression models using the HR, CRT and AS recorded at the previous vet gate ($n-1$) and thus predict elimination at subsequent phases (vet gate n and following) of the event.

Methods

Data

Endurance events (ranging from 80 km to 160 km in total distance) are split into four, five or six successive phases of approximately 30–40 km. At the end of each phase, each horse undergoes a veterinary inspection (referred to as a vet gate; Fig 1).

The GenEndurance project (which encompasses the present study) was approved by the local Animal Care and Use Committee (ComEth Anses/ENVA/UPEC, Maisons-Alfort, France; approval number: 12/07/11-1). However, the present study did not involve any experiments on animals. All the horses having provided data for the present study had competed in official events organized according to the FEI rules [2]). All study data were extracted from the electronic timing records (ATRM Systems, Tarbes, France) of endurance events having taken place between 2007 and 2011 [19]). In total, the database included 4070 different horses and 7032 starts in high-level national and international endurance events over distances of 80 to 160 km (rated as 1-, 2- or 3-star events) (S1 Table). A total of 1622 horses participated in at least two events; the proportion of multi-starters did not differ significantly as a function of distance, country or the reason for elimination (S2 Table). The events took place in four countries: France (FRA, accounting for 78.7% of the event), the United Arab Emirates (UAE: 4.7%), and Spain+Portugal (SPA+POR, pooled data: 6.6%). Missing data for some horses (age, phase and reason for elimination) were retrieved from the FEI's web database [1]. Two categorical variables were used to characterize the events in which HR and speed data were collected:

- the type of event, according to the distance ridden in one day: 1-star events (80 to 119 km: 27.2%), 2-star events (120 to 139 km: 54.9%) and 3-star events (140 to 160 km: 17.9%).
- the country in which the event was organized: FRA, SPA+POR and UAE. Climate data (temperature and humidity) for these zones were extracted *a posteriori* from a meteorological database and are given in S3 Table [20]. For the logistic regressions, data from SPA and POR were pooled because of the low number of events and the similar weather conditions in the two countries.

At each vet gate, the HR is measured by a veterinarian using a stethoscope. The CRT was calculated as the difference between the arrival time (at the end of the phase) and the time of veterinary inspection (referred to as the "time in" by the FEI endurance rules [2]). When two HR values were available for the same inspection, only the first value was considered for further analysis. The following variables were analyzed for all horses:

- the AS for each phase.
- the CRT and HR at each vet gate.
- if appropriate, the number of the vet gate at which the horse was eliminated and the reason for elimination. Horses can be eliminated at any vet gate if the horse is considered to be unfit.
- event outcome: at the end of the event, the horses were divided in two groups: qualified (Q) horses had finished the event and passed all veterinary examinations, whereas eliminated (EL) horses had been eliminated by the judges for one of the four following reasons as defined in the following FEI endurance rules [2]:
- **Lameness (LA)**, for horses consistently observed to be lame by a panel of veterinarians. Lameness is "an irregularity of gait which must be consistently observable at trot, or an equivalent gait; and is observable through evaluation by trotting the horse on a loose lead in

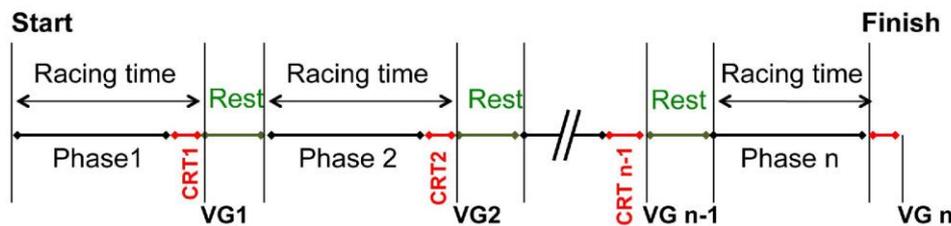


Fig 1. Schematic diagram of an endurance event. The competition is divided into phases of 30–40 km that are followed by 40- to 50-minute rest periods. Horses are checked by veterinarians at the vet gates (VGs) between each phase. The HR must be below 65 bpm when the horse is examined at the vet gate. The cardiac recovery time (CRT) is defined as time interval between the end of the phase and presentation at the vet gate; it counts towards the total running time.

doi:10.1371/journal.pone.0137013.g001

hand straight out and back, without prior flexion or deep palpation; which must be observed to cause pain, or threaten the immediate ability of the horse to safely perform athletically”.

- **Metabolic reasons (ME)**, for horses that failed to achieve the required heart rate threshold (below 65 bpm, for example) required by the event’s distance and number of stars) or did not meet the criteria for over biological parameters (body temperature, blood pressure, hydration, electrolyte balance, intestinal activity, HR, etc.). Metabolic status is assessed by “the examination and recording of those parameters that indicate the horse’s fitness to continue including (but not exclusive to) mucous membranes, capillary refill time, hydration, intestinal activity, behavior and cardiac recovery index”.
- **Retirement (RET)**, for horses voluntarily withdrawn from event by their rider despite having passed all required veterinary inspections up to that point.
- **Elimination for other reasons (OR)**, for horses eliminated from the event for reasons other than those listed above.

Lastly, in order to check the validity of the predictive logistic regressions, we computed the probability of elimination for an independent dataset of 80 horses having competed in 1, 2 and 3-star endurance events organized in 2014. The 80 horses were randomly selected so that the dataset contained 10 qualified and 10 eliminated horses for each phase (i.e. phases 2, 3, 4 and 5).

Statistical analysis

We used predictive logistic regression analysis to estimate probability of elimination from vet gates 2 to 5 and at the finish. The input variables were AS, CRT and HR measured at the previous vet gate (n-1). Given the absence of pre-ride data (CRT and HR at rest), horses eliminated at vet gate 1 (i.e. after the first phase of the event) were not included in the study. For each vet gate, an equal number of Q and EL horses were selected at random from the total set of available horses. Logistic regression consisted in computing the probability of be classified as qualified (Q) or eliminated (EL), using three explanatory variables (AS, CRT and HR) and two categorical variables (distance and country) as input variables. Briefly, the odds ratio was log-transformed (using the Newton-Raphson algorithm) in order to iteratively optimize the best model of the categorical and quantitative explanatory variables (using NCSS-2007 software [21,22]). In contrast to other classification methods (such as discriminate analysis), logistic regression does not require any assumptions to be made as to whether the explanatory variables are distributed normally or not. In order to quantify the regression’s predictive power for each phase, we measured the area under the receiving operating characteristic (ROC) curve (AUROC).

Results

Elimination of horses from endurance events

Of the 7032 starting horses, 38.94% (2738) were eliminated during an event; 64.46% of these eliminations were due to LA, with 15.23% due to ME, 14.35% due to RET and 5.96% due to OR (Table 1). Most eliminations (63.8%) occurred at vet gates 2 or 3, where the probability of elimination was higher in all events (regardless of the event distance) (Fig 2). The three speeds and cardiac recovery variables were strongly influenced by the outcome of the event (EL or Q) and the event distance (Table 2).

Predictive logistic regressions

The optimum logistic regression was computed for each vet gate (gates 2 to 5). The best indicators of validity are the percentage of well-classified observations and the AUROC, which characterize the logistic regression model's ability to predict a horse's classification as EL or Q (Table 3 and S4 Table). The percentage of correctly classified horses at each vet gate ranged from 61.8% to 86.6% (Table 3). The AUROC values ranged from 0.68 to 0.84 (relative to a maximum possible value of 1) and thus indicated good predictive power for classification of the horses at vet gates 2 to 5 (Table 3 and Fig 3). The predictive power was highest for vet gate 5 (with a correct classification rate of 86.6% and an AUROC of 0.84). In contrast to linear regression, the R^2 value derived from logistic regression is not a good indicator of validity because it estimates the percentage of variation in the binary dependent variable (Q or EL) accounted for by the explanatory variables AS, CRT and HR at the previous vet gate ($n-1$). In the present study, R^2 values were between 0.12 and 0.37; however these values did not accurately reflect the logistic regressions' predictive power.

Using the same dataset, we also computed logistic regressions to predict the reason for elimination (i.e. LA, ME, RET and OR) at each vet gate (S4 Table). The correct classification rate at each vet gate ranged from 51.18% to 73.5%; these values were lower than for Q vs. EL predictions.

Validation of the predictive logistic regressions with an independent dataset

The ROC curves enabled us to determine the false positive rate and false negative rate with regard to the probability of elimination. When considering the horse's health, it is better to have false positives than false negatives. A probability of 50% would have generated too many false negatives. Hence, we chose a probability of elimination of 70% as a threshold for classifying the predictions based on an independent dataset from 2014. Using this threshold, 75% of the 80 horses were classified correctly (Table 4). The error rate of 25% corresponded to a false negative rate of 8.7% and a false positive rate of 16.3%.

Detection of unfit horses via the definition of critical thresholds for HR recovery variables

Lastly, we determined the threshold values of AS and CRT that corresponded to a 70% probability of elimination at a vet gate n due to an HR of 65 or more. Using the logistic regression equations with a HR value set to 64, we computed all the combinations of CRT and AS that gave a probability of elimination of between 20% and 100%. The results are presented using a colour scale in order to show the probability of elimination when the CRT and AS were above the computed thresholds at the previous vet gate ($n-1$) (Fig 4). Briefly, a horse that needs more than 11 min to recover (i.e. to achieve an HR below 65 bpm) at vet gates 1 or 2 has a 70%

Table 1. Distribution of horses according to the outcome of the event and the reason for elimination.

Horses	Event outcome		Reason for elimination			
	Qualified	Eliminated	Lameness*	Metabolic disorders	Retired	Other reasons
Number	4294	2738	1765	417	393	163
Percentage	61.06%	38.94%	64.46%	15.23%	14.35%	5.96%

*Significant difference at $p < 0.05$; **bold characters** = highest values.

doi:10.1371/journal.pone.0137013.t001

probability of being eliminated at vet gates 2 or 3 (Fig 4), respectively. At vet gates 3 or 4, a horse that needs more than 13 min to recover has a 70% probability of being eliminated at vet gates 4 or 5, respectively (Fig 4). Although the probability of elimination rises with increasing AS for all phases, the phenomenon is more pronounced in phases 2 and 3 (as observed when considering the relative distribution of eliminations during the events; Fig 2 and Table 2).

Discussion

By analyzing a large dataset from equine endurance events (from 80 to 160 km in distance) organized in four different countries, we were able to compute logistic regressions and estimate the probability of elimination at each vet gate. On average, between 64.8 to 86.6% of all eliminations at vet gates 2 to 5 could be predicted from data collected at the previous vet gate. Furthermore, the predictive models' robustness was confirmed with a new, independent dataset; 75% of the eliminations were correctly predicted. These results confirm the relationship between CRT, HR and AS measured at phase $n-1$ and elimination at phase n . Changes in CRT, HR and AS during the event are clearly associated with an increased probability of elimination at the next vet gate. The higher the speed, the higher the probability of elimination. This result is in line with previous studies [3,8]. The AS in phases 2 and 3 appears to be strongly associated with the probability of elimination at vetgates 3 and 4. Most metabolic changes occur during the first half of an event [4,23]; when combined with high speed, the effect of these changes

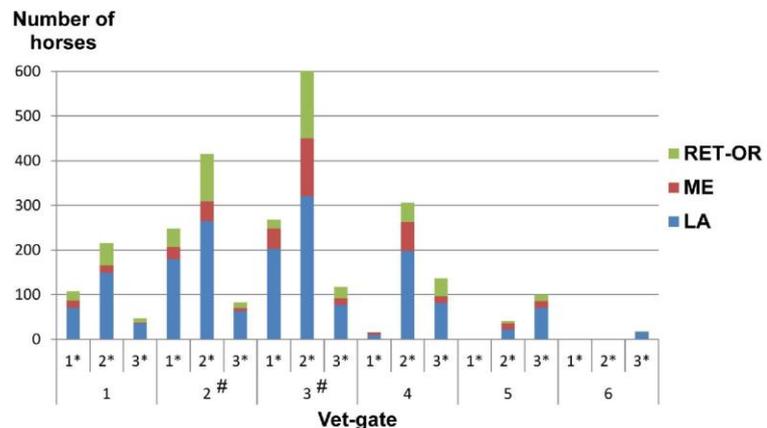


Fig 2. Distribution of the eliminated horses as a function of the cause of elimination, the vet gate and the event distance. 1*: 80–119 km, 2*: 120–139 km, 3*: 140–160 km, LA: lameness, ME: metabolic reasons, RET: retirement, OR: other reasons. # indicates a significantly greater elimination rate for all distance categories.

doi:10.1371/journal.pone.0137013.g002

Table 2. The AS, CRT and HR as a function of the outcome of the event, for different distance categories.

Performance	Distance category	Event outcome			
		Qualified (Q)	LA	ME	RET
Average speed (km/h)	1-star event (#)	16.80 (2.31)	16.94 (2.44) ^{ab}	17.24 (3.23) ^a	16.32 (2.67) ^b
	2-star event	17.50 (3.01)	17.82 (3.21)	17.71 (3.35)	17.72 (3.75)
	3-star event	15.70 (1.83)	15.73 (1.52)	15.47 (1.63)	15.38 (1.79)
Cardiac recovery time (min)	1-star event (#)	5.94 (2.89)	6.95 (3.36) ^b	12.01 (7.00) ^a	7.56 (3.92) ^b
	2-star event (#)	4.77 (2.15)	5.01 (2.48) ^c	7.99 (3.96) ^a	6.66 (3.49) ^b
	3-star event (#)	4.25 (1.74)	4.61 (3.80) ^b	6.82 (3.36) ^a	5.77 (2.97) ^a
Heart rate (bpm)	1-star event (#)	55.77 (4.34)	55.21 (4.80) ^c	61.93 (6.50) ^a	57.02 (5.72) ^b
	2-star event (#)	58.03 (3.27)	57.90 (4.31) ^b	61.41 (5.08) ^a	57.97 (4.40) ^b
	3-star event (#)	59.90 (2.11)	95.82 (3.6) ^b	62.74 (3.69) ^a	60.13 (3.24) ^b

Data are presented as the mean (standard deviation) LA: lameness; ME: metabolic reasons; RET: retired; 1-star event: 80–115 km; 2-star event: 119–130 km, 3-star event: 140–160 km.

For each variable and event level marked by (#) an analysis of variance tested a significant effect between the reasons of elimination at $p < 0.05$. The superscript letters ^a, ^b and ^c indicate significant differences ($p < 0.05$) between mean values for the various reasons of elimination.

doi:10.1371/journal.pone.0137013.t002

increases the probability of elimination later in the event. Elevated values of CRT and HR were also associated with a greater probability of elimination [24].

The data collected in the present study corresponded to a quarter of the FEI-registered endurance events organized between 2007 and 2011. These data were more representative of the major events, which have a high enough budget to finance electronic time-keeping. Hence, our results might have been biased by the high-level events. Most of the events in the database took place in three European countries (SPA-PORT and FRA), with few events in the UAE. Other countries with major endurance events (the USA, New Zealand, Australia, South America countries, the UK, South Africa, Italy, etc.) were not included in the database. Strictly, the results presented here can be applied in FRA, ESP, PORT and UAE—the countries on which our regression models were based—and thus should be evaluated with caution in other countries (particularly those with a different climate and/or different course profiles. Twenty-three percent of the horses were represented twice or more in the database because they started in

Table 3. Results of the logistic regressions used to estimate the probability of elimination at each vet gate (based on variables recorded at the previous vet gate).

Vet gate	Vet gate 2	Vet gate 3	Vet gate 4	Vet gate 5
Number of observations	1450	1961	874	253
Explanatory variables *	AS ₁ , CRT ₁ , HR ₁	AS ₂ , CRT ₂ , HR ₂	AS ₃ , CRT ₃ , HR ₃	AS ₄ , CRT ₄ , HR ₄
Categorical variables *	distance and age	distance and age	distance	distance
Percentage of horses correctly classified	64.80%	68.70%	61.80%	86.60%
AUROC	0.72	0.74	0.68	0.84
Estimated R ²	0.12	0.15	0.10	0.37
Sensitivity (EL)	0.64	0.73	0.71	0.70
Specificity (EL)	0.64	0.63	0.54	0.99

*explanatory and categorical variables included in the logistic regression using the Newton-Raphson method.

AS_{n-1}: average speed measured before vet gate n; CRT_{n-1}: cardiac recovery time before vet gate n; HR_{n-1}: heart rate measured before vet gate n; EL: eliminated; AUROC: area under the receiver operating characteristic curve.

doi:10.1371/journal.pone.0137013.t003

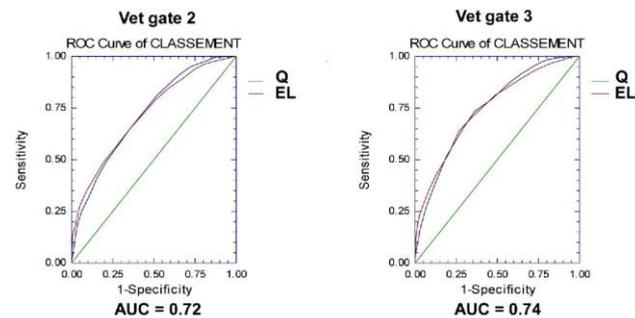


Fig 3. ROC curves of the logistic regressions for vet gates 2 and 3. The AUROC values (0.72 and 0.74, respectively) were acceptable and were associated with correct classification rates of 64% and 68%, respectively (AUROC = area under the ROC curve, Q = qualified, EL = eliminated).

doi:10.1371/journal.pone.0137013.g003

more than one event. However, participation in an event can be considered as being partially independent of the other events, since an event’s outcome depends on (among other things) the horse’s fitness and the prevailing environmental conditions (other competitors, the course profile, weather conditions, riding style and tactics, etc.) [5,8].

Although several studies [3,8] have highlighted the risks associated with excessively high speed in endurance events, the present study may be the first to have demonstrated the relationship between AS, CRT and the probability of elimination. Our study data showed that 39% of the horses were eliminated. The main reasons for elimination were lameness and then metabolic reasons; this was true in all four countries studied. The incidence of elimination measured in the present study falls within the range of values reported in the literature (from 18.9% [24] to 54% [8]). In the validation sample of horses having raced in 2014, the incidence of elimination (again 39%) agrees with epidemiological data for the general population of endurance horses [8, 24]. Differences in the reported incidence of elimination may be due to differences in the numbers of starts, weather conditions and/or the event distance. In studies of endurance events, lameness has always been the most frequent reason for elimination (accounting for between 50 and 70% of eliminations) [8,24]. High elimination rates in endurance events have been linked to several factors: the environmental conditions at the race site, a high number of starters in the event, long event distances, the track conditions, the training method and the riding style [5,8]. Breeds of horses with a high body mass index (such as the Appaloosa and the Quarter Horse) are more likely to be eliminated than purebred Arabians [24]. In summary, our sample was representative of the epidemiological data recorded in endurance events in Europe and the UAE. The data enabled us to compute logistic regression models for predicting the probability of elimination from events in these countries. Furthermore, our predictive logistic

Table 4. Validation of the predictive logistic regressions by applying an independent dataset (including 80 horses having competed in endurance events in 2014). By applying a 70% probability of elimination in the regression calculations, the correct prediction rate was 75%. There were relatively few false negative predictions (8.70%), whereas the false positive rate was higher (16.30%).

	REAL STATUS		PREDICTED STATUS		PREDICTION ERROR		
Qualified	48	60%	35	43.70%	13	16.30%	False positive
Eliminated	32	40%	25	31.20%	7	8.70%	False negative
Total	80	100%	60	75%	20	25%	False prediction

doi:10.1371/journal.pone.0137013.t004

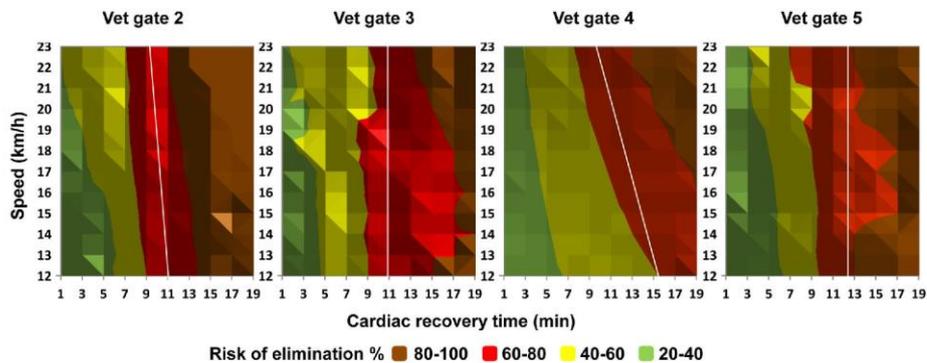


Fig 4. Three-dimensional scatter plots showing the probability of elimination at vet gates 2, 3, 4 and 5, according to the corresponding logistic regressions with a fixed HR of 64 and the AS and CRT measured at the previous vet gate (n-1). Red corresponds to a probability of elimination of 60 to 80%, whereas brown (the darkest areas) corresponds to a probability of 80 to 100%. The white line corresponds to a probability of elimination of 70% (the threshold chosen to compute the probability of elimination in an independent data set used for validation).

doi:10.1371/journal.pone.0137013.g004

regressions took into account the main effects of the event level (distance) and the country in which the event took place (which includes weather conditions and other specific factors).

Eliminations for LA or MET are intended to prevent tired horses from continuing the event and then developing conditions associated with exhaustion and illness [4,25]. Despite the application of stringent rules and thorough veterinary examinations, it has been reported that 12% of the horses starting an endurance events require emergency treatment after wards [12]. Consequently, it is essential to identify horses likely to be eliminated as early as possible, in order to improve animal welfare, decrease the incidence of subsequent pathologies and avoid accidents during and after endurance events. The present study was designed to investigate the possible relationship between the probability of elimination and the measured performance-related variables (AS, HR and CRT). Our results showed that eliminated horses had higher HR values and a longer CRT at vet gates than qualified horses. This tachycardia might be a warning sign of peripheral and central fatigue. Tachycardia can result from a decrease in HR variability and low levels of parasympathetic activity, with persistence of the sympathetic component [26]. An increase in HR during events and a decrease in gastrointestinal sounds have already been associated with an increased probability of elimination for MET in endurance horses [24]. The HR is considered to be a good indicator of the degree of fatigue during endurance exercise; HR monitoring is therefore an important means of assessing fitness levels [18,27]. In humans, endurance training can increase parasympathetic nervous system activity and accelerate HR recovery [28,29]. In healthy people, HR recovery is an independent prognostic marker of cardiovascular disease and all-cause mortality [30]. Good training and efficient event management might limit fluid and electrolyte imbalances by improving the horses' cardiac and aerobic capacities during the event [6,17,18,25,23].

Multiple regression, discriminant analysis and logistic regression can potentially all be used to classify horses as Q or EL as a function of the input variables available in event records. When discriminant analysis and logistic regression were compared, the latter method appeared to be the best for a two-group context (as in the present study) [31]. Furthermore, logistic regression does not require any specific assumptions concerning the distribution of the measured variables; this is not the case in factorial discriminant analysis, which assumes a normal data distribution. The results of our logistic regressions showed that it is possible to predict the elimination of a horse on the basis of the HR, CRT and AS measured at the previous vet gate

($n-1$). The number of observations used for each logistic regression was acceptable when seeking to compute accurate models of elimination in different types of high-level endurance events. The AUROC enabled us to quantify the false positive and false negative prediction rates, and is the best criterion for validating a model's predictive power [32]. Surprisingly, the R^2 obtained from a logistic regression analysis is not an appropriate measure of the quality of the binary model response because it is only an approximate value. This was confirmed in the present study because the low but acceptable R^2 values (0.12–0.37) were associated with rather high AUROC values (0.68–0.84), which confirmed the model's ability to distinguish between two groups. In the present study, we chose to favor a higher false positive rate over a high false negative rate, so that an unfit and potentially ill horse could be identified as early as possible. Hence, we chose a probability of elimination of 70% for the validation test, this corresponded to a false positive rate of 16.3% and a false negative rate of only 8.7%. It was not possible to include more explanatory variables (such as weather conditions or the horse's age) in the models because the small sample size and unequal number of Q and EL horses in each subgroup would have prevented high-quality prediction. Including a putative effect of double starts in the statistical models was not possible because it would have generated too many the degrees of freedom for robust calculations. We also computed also logistic regressions to predict the reason for elimination at each vet gate, however the correct prediction rate was too low for most of the vet gates (except for the last vet gate 5, where few horses were eliminated).

Lastly, the present study made it possible to calculate CRT threshold values that could be usefully applied to examinations at the vet gate: horses requiring more than 11 min to achieve an HR below 65 at vet gates 1 and 2 or more than 13 min at vet gates 3 and 4 have a 70% chance of being eliminated at the next vet gates (2, 3, 4 and 5). This information has great practical value and suggests that it would be possible to detect tired horses earlier in the event than veterinarians currently do. It has been demonstrated that the current vet gate examination enables veterinarians to detect physiologically compromised horses [2,4]. However, the horses' health could be safeguarded by detecting and eliminated unfit animals as early as possible in the event, i.e. before the appearance of patent signs of exhaustion. Hence, the CRT, the recovery check and other clinical measurement appear to be particularly useful markers of fitness [7,24]. Application of the CRT threshold values calculated in the present study (11 and 13 minutes) might help to reduce the morbidity seen at endurance event and therefore improve equine welfare in this extreme sport. However, eliminations are likely to be the end result of a multifactorial process; only the veterinarians will be able to integrate all types of information (CRT, HR, AS and other clinical variables). Given the statistical nature of the prediction and the presence of false positive predictions, the present predictive models should not be used directly as a FEI rule for eliminating a horse but could serve as a tool for improving the efficiency of the vet gates. For example, the probability of elimination could be given to the rider and the trainer as a warning. They could therefore decide whether to retire, slow down (in order to decrease the risk of elimination at the next vet gate) or maintain the same racing strategy (despite the high risk of elimination at the next vet gate).

Conclusion

Our results show that it is possible to compute predictive logistic regressions for each vet gate (2 to 5) and correctly detect between 61.8 and 86.6% of horses subsequently judged to be unfit, by using AS, CRT and HR measured at the previous vet gate). The CRT appears to be a particularly relevant predictive variable for detecting unfit horses during the event. We suggest that the CRT should be checked at each vet gate, in order to identify unfit horses earlier and thus improve their welfare. In practice, CRT threshold values of 11 min (at vet gates 1 and 2) and 13

min (at vet gates 3 and 4) are associated with a 70% probability of elimination at the next vet gate. We encourage the veterinarians involved in endurance events and the FEI to apply this new knowledge, in order to improve the welfare of endurance horses and prevent health problems during or after endurance events.

Supporting Information

S1 Table. Total raw data including 7032 performance records used in the present study.
(XLS)

S2 Table. Distribution of horses according to the number of starts, number of eliminations, reason for elimination, distance category and country.
(PDF)

S3 Table. Mean (SD) shade temperature (°C) and relative humidity (%) in each country, for the month and the season during which the endurance event was organized.
(PDF)

S4 Table. Results of the logistic regression, with an estimation of the probability of elimination as a function of the event outcome and the reason for elimination at each vet gate (based on variables recorded at the previous vet gate).
(PDF)

Acknowledgments

We thank ATRM for giving us easy access to their timekeeping data. We also thank David Fraser, Laurence Le Moyec and Margaux Luck for proofreading this article.

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: EB CR. Performed the experiments: EB CR MY. Analyzed the data: MY EB CR. Contributed reagents/materials/analysis tools: EB MY FC. Wrote the paper: MY EB CR. Prepared the Database: MY. Read and approved final manuscript: EB CR MY FC.

References

1. Federation Equestre Internationale (2014). Available: <http://www.fei.org/fei/disc/endurance/about>. Accessed 25 September 2014.
2. Federation Equestre Internationale: Endurance rules (1 January 2014). Available: http://d2ig246cioy4di.cloudfront.net/cdn/farfuture/AH9daaGUL_yvQC6TBd9EIBvmoeq_V8ErUX89JyuZQuE/mtime:1410852393/sites/default/files/Endurance%20Rules%20-%202014%20-%20Clean%20Version%2030.07.2014.pdf. Accessed 25 September 2014.
3. Marlin DJ, McEwen J, Sluyter F. Completion and treatment rates in modern endurance racing. In Proceedings of 4th International Conference of the International Society for Equitation Science: Dublin, Ireland. 2008.
4. Barnes A, Kingston J, Beeton S, Kuiper C. Endurance veterinarians detect physiologically compromised horses in a 160 km ride. *Equine Vet J Suppl.* 2010 Nov;(38):6–11. doi: 10.1111/j.2042-3306.2010.00225.x PMID: 21058975
5. Nagy A, Murray JK, Dyson SJ. Descriptive epidemiology and risk factors for eliminations from Fédération Equestre Internationale endurance rides due to lameness and metabolic reasons (2008–2011). *Equine Vet J.* 2014 Jan; 46(1):38–44. doi: 10.1111/evj.12069 PMID: 23574513
6. Flaminio MJ, Rush BR. Fluid and electrolyte balance in endurance horses. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 1998 Apr; 14(1):147–58. PMID: 9561693
7. Robert C, Benamou-Smith A, Leclerc JL. Use of the recovery check in long-distance endurance rides. *Equine Vet J Suppl.* 2002 Sep;(34):106–11. PMID: 12405668

8. Nagy A, Murray JK, Dyson S. Elimination from elite endurance rides in nine countries: a preliminary study. *Equine Vet J Suppl.* 2010 Nov;(38):637–43. doi: [10.1111/j.2042-3306.2010.00220.x](https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2010.00220.x) PMID: [21059073](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21059073/)
9. Schott HC, Marlin DJ, Geor RJ, Holbrook TC, Deaton CM, Vincent T, et al. Changes in selected physiological and laboratory measurements in elite horses competing in a 160 km endurance ride. *Equine Vet J Suppl.* 2006 Aug;(36):37–42. PMID: [17402389](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17402389/)
10. Amory H, Votion D-M, Fraipont A, Goachet AG, Robert C, Farnir F, et al. Altered systolic left ventricular function in horses completing a long distance endurance race. *Equine Vet J Suppl.* 2010 Nov;(38):216–9. doi: [10.1111/j.2042-3306.2010.00253.x](https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2010.00253.x) PMID: [21059009](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21059009/)
11. Barrey E, Mucher E, Robert C, Amiot F, Gidrol X. Gene expression profiling in blood cells of endurance horses completing competition or disqualified due to metabolic disorder. *Equine Vet J Suppl.* 2006 Aug;(36):43–9. PMID: [17402390](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17402390/)
12. Robert C. Veterinary aspects of training and racing endurance horses. In: Hinchcliff K, Kaneps A, Geor R. *Equine sports medicine and surgery.* Elsevier Health Sciences; 2013. pp. 1083–1108.
13. Valette JP, Heiles PH, Wolter R. Multivariate analysis of exercise parameters measured during the training of thoroughbred racehorses. *Pferdeheilkunde.* 1996 Juli;(12):470–473.
14. Munsters C, de Gooijer JW, van den Broek J, van Oldruitenborgh-Oosterbaan MMS. Heart rate, heart rate variability and behaviour of horses during air transport. *Vet Rec.* 2013 Jan 5; 172(1):15. doi: [10.1136/vr.100952](https://doi.org/10.1136/vr.100952) PMID: [23143989](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23143989/)
15. Von Borell E, Langbein J, Després G, Hansen S, Leterrier C, Marchant-Forde J, et al. Heart rate variability as a measure of autonomic regulation of cardiac activity for assessing stress and welfare in farm animals. *Physiol Behav.* 2007 Oct; 92(3):293–316. PMID: [17320122](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17320122/)
16. Evans DL, Harris RC, Snow DH. Correlation of racing performance with blood lactate and heart rate after exercise in thoroughbred horses. *Equine Vet J.* 1993 Sep; 25(5):441–5. PMID: [8223377](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8223377/)
17. Hada T, Ohmura H, Mukai K, Eto D, Takahashi T, Hiraga A. Utilisation of the time constant calculated from heart rate recovery after exercise for evaluation of autonomic activity in horses. *Equine Vet J Suppl.* 2006 Aug;(36):141–5. PMID: [17402409](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17402409/)
18. Bitschnau C, Wiestner T, Trachsel DS, Auer JA, Weishaupt MA. Performance parameters and post exercise heart rate recovery in Warmblood sports horses of different performance levels. *Equine Vet J Suppl.* 2010 Nov;(38):17–22. doi: [10.1111/j.2042-3306.2010.00260.x](https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2010.00260.x) PMID: [21058977](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21058977/)
19. The ATRM Systems Company. Available: <http://www.atrm-systems.fr/index0fr.htm>. Accessed 17 March 2012.
20. Website of meteorological condition (2007–2011) archives-météo. Available: <http://archives-meteo.fr/>. Accessed 10 September 2015.
21. NCSS User's Guide—III, Regression and Curve Fitting (2007) Logistic regression. Available: <http://ncss.wpengi.netdna-cdn.com/wp-content/uploads/2012/09/NCSSUG3.pdf>. Accessed 30 September 2014.
22. Lee ET. A computer program for linear logistic regression analysis. *Comput Programs Biomed.* 1974 Oct; 4(2):80–92. PMID: [4434745](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4434745/)
23. Robert C, Goachet AG, Fraipont A, Votion DM, Van Erck E, Leclerc JL. Hydration and electrolyte balance in horses during an endurance season. *Equine Vet J Suppl.* 2010 Nov;(38):98–104. doi: [10.1111/j.2042-3306.2010.00198.x](https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2010.00198.x) PMID: [21058989](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21058989/)
24. Fielding CL, Meier CA, Balch OK, Kass PH. Risk factors for the elimination of endurance horses from competition. *J Am Vet Med Assoc.* 2011 Aug; 239(4):493–498. doi: [10.2460/javma.239.4.493](https://doi.org/10.2460/javma.239.4.493) PMID: [21838587](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21838587/)
25. Foreman JH. The exhausted horse syndrome. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 1998 Apr; 14(1):205–19. PMID: [9561696](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9561696/)
26. Cottin F, Barrey E, Lopes P, Billat V. Effect of repeated exercise and recovery on heart rate variability in elite trotting horses during high intensity interval training. *Equine Vet J Suppl.* 2006 Aug;(36):204–9. PMID: [17402419](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17402419/)
27. Rose RJ, Hendrickson DK, Knight PK. Clinical exercise testing in the normal thoroughbred racehorse. *Aust Vet J.* 1990 Oct; 67(10):345–348. PMID: [2288536](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2288536/)
28. Hagberg JM, Hickson RC, Ehsani AA, Holloszy JO. Faster adjustment to and recovery from submaximal exercise in the trained state. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol.* 1980 Feb; 48(2):218–24. PMID: [7364606](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7364606/)
29. Javorka M, Zila I, Balhárek T, Javorka K. Heart rate recovery after exercise: relations to heart rate variability and complexity. *Braz J Med Biol Res.* 2002 Aug; 35(8):991–1000. PMID: [12185393](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12185393/)

30. Cole CR, Blackstone EH, Pashkow FJ, Snader CE, Lauer MS. Heart-rate recovery immediately after exercise as a predictor of mortality. *N Engl J Med*. 1999 Oct; 341(18):1351–1357. PMID: [10536127](#)
31. Press SJ and Wilson S. Choosing between logistic regression and discriminant analysis. *Journal of the American Statistical Association*. 1978 Oct; 73(364): 699–705.
32. Seshan VE, Gönen M, Begg CB. Comparing ROC curves derived from regression models. *Statist Med*. 2013 Oct; 32(9): 1483–1493.

2.3. Conclusion de l'article et perspectives

L'étude des variables de récupération cardiaque (FCR et TRC) en fonction du classement (Q et EL) dans la première étude, a permis d'identifier un profil particulier des chevaux à risque. Une FCR élevée et un temps de récupération cardiaque important dès le début de la course. Ce profil particulier des chevaux éliminés a été utilisé dans cette deuxième étude afin de prédire le risque d'élimination sur les courses d'endurance.

Cette étude est unique dans son genre puisqu'elle rend possible de prédire le risque d'élimination du cheval au VetGate (n) sur la course à partir de l'étude de sa récupération cardiaque et de sa vitesse aux VetGate précédents. Sur un plan pratique, cette étude a permis de proposer des seuils de prédiction d'élimination en se basant sur les variables mesurées (FCR, TRC et la vitesse) sur les courses avec une fiabilité de 70 %. Ceci, présente un véritable défi pour l'endurance équestre très critiquée par les associations de protection animal e suite à l'augmentation des blessures sur les courses.

En se basant sur les résultats de l'étude 1 et 2 on peut déduire que les variables de course (vitesse, FCR et TRC en particulier) sont des paramètres déterminants du classement sur les épreuves d'endurance. D'autre part, ces variables sont des outils fiables pour la prédiction du risque d'élimination sur les courses comme nous venons de le démontrer dans cette étude.

L'importance de ces paramètres (FCR, TRC et Vitesse) sur la performance en courses d'endurance, nous ont poussé à poser des questions:

1. Les paramètres de récupération cardiaque (FCR et TRC) et la vitesse sont ils plus influencés par l'entraînement ou par la génétique?
2. L'héritabilité de la récupération cardiaque, est-elle assez importante chez le cheval d'endurance? Si oui, pourrait-elle considérer comme un nouveau critère de sélection des meilleurs chevaux?

Pour répondre à ces questions, nous avons mené la troisième étude présentée dans la partie suivante afin d'estimer l'héritabilité de la récupération cardiaque (FCR et TRC) et de la vitesse. Cette étude va nous permettre de mieux cerner le profil des chevaux les plus adaptés aux épreuves de longue durée.

3. Estimation de l'héritabilité des facteurs cardiaques en course d'endurance.

3.1. Résumé

Les chevaux arabes et croisés arabes présentent les caractères physiologiques et génétiques les mieux adaptés pour les courses d'endurance (80 à 160 km). L'héritabilité (h^2) indique le pourcentage d'un caractère donné qui peut être transmis par un reproducteur à sa descendance ($h^2 = \text{variance génétique} / \text{variance totale du caractère mesuré dans la population}$).

Chez l'athlète humain, l'héritabilité des caractères physiologiques : $VO_{2\max}$, FC_{\max} , capacité d'endurance, sont respectivement de : 12%, 72% et 32%. L'héritabilité de la vitesse de course chez le cheval d'endurance est d'environ 28% (Ricard and Touvais. 2007).

L'objectif de cette étude est de calculer l'héritabilité de la fréquence cardiaque de récupération (FCR), du temps de récupération cardiaque (TRC) et de la vitesse sur des courses de 80-160 km.

La population de l'étude représente 4421 partants (2589 chevaux différents) de pédigrée connu qui représentent 655 pères (étalons) et 1744 mères uniques avec en moyenne 18.5 descendants par père. Les données proviennent de l'ensemble de 132 courses d'endurance entre 2007 et 2011 sur des épreuves de 80 à 160km.

L'héritabilité de chaque paramètre enregistré (TRC, FCR et V.moy) a été calculée en utilisant la méthode Restricted Estimator of Maximal Likelihood (REML, VCE6). Les héritabilités du TRC, de la FCR et de la vitesse sont respectivement de : 46%, 14 % et 12 %. Le temps de récupération cardiaque (TRC) est plus influencé par l'effet génétique transmis par les parents, par contre la FCR et la vitesse semblent plus influencés par l'entraînement physique et d'autres facteurs environnementaux.

Mots clés : Récupération cardiaque, vitesse, génétique, endurance

3.2. Publication

Estimates of heritability of cardiac recovery in long distance endurance horses

M.Younes¹, C. Robert², C. Blouin³, F.Cottin^{4,5}, E. Barrey^{1,3}

¹ UBIAE, Inserm U902, University of Evry Val d'Essonne, Evry, France

² Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, University of Paris-Est, Maisons-Alfort, France

³ INRA, UMR1313 Génétique Animale et Biologie Intégrative, Jouy-en-Josas, France.

⁴ CIAMS, University of Paris Sud, Orsay, France.

⁵ STAPS Department, University of Evry Val d'Essonne, Evry, France.

Statut : présenté en communication poster au congrès International ICEEP 2014.

Younes, M, C Robert, F Cottin, and E Barrey. "Genetic Component of Endurance Ability." *Equine Veterinary Journal* 46 (June 1, 2014): 15–15. doi:10.1111/evj.12267_46. (International Conference on Equine Exercise Physiology, Liverpool. 2014).

En préparation pour soumission à *Genetics Selection Evolution* (IF: 3.8)

Abstract

Arabian horses have the best records in long distance endurance racing (80-160 km). The endurance horses are interesting models to calculate the heritability (h^2) of exercise ability. Heritability indicates the percentage of trait transmitted by parents to their descendants

($h^2 = \text{Genetic variance} / \text{Total variance of the trait measured in the population}$).

In human athletes, heritability of physiological traits calculated using twin design were 0.12, 0.72 and 0.32 for VO₂max, Heart Rate max and endurance capacity respectively. Heritabilities of 0.28 and 0.06 for speed and placing respectively are reported in endurance horses (Ricard and Touvais. 2007).

The aim of this study was to calculate the heritability of recovery heart rate, cardiac recovery time and average speed in long distance endurance racing.

The results of 132 endurance races (80–160 km) from 2007 to 2011 were analyzed. The database included 4421 horses of known pedigrees representing 655 sires and 1744 different mothers with a mean of 18.5 products per sire. The data were analyzed using Restricted Estimator of Maximal Likelihood (REML, VCE6) method with animal mixed model including country, ride distance, age, gender, common environment as fixed effects and animal genetic as random effect.

Estimates of heritability for speed ranged from 0.11 to 0.12. The heritability of recovery heart rate was between 0.08 to 0.15 and the heritability of the cardiac recovery time from 0.36 to 0.46. The speed and heart rate recovery seem more influenced by training and environmental effects than the cardiac recovery time which is more influenced by genetics. This high heritability is consistent with heritability of V200 found in French Trotter population and may indicate a putative quantitative trait linkage.

Keywords : heart rate, recovery, heritability, endurance, Arabian horse

Introduction:

Endurance riding has expanded over recent years, which has been accompanied by a growing demand for horses with aptitude in long distance riding. In international endurance competitions, horses compete over distances of 80-160 km in a day (FEI 2014). The ride is divided into phases from 20 to 40 km; after each phase, there is a mandatory resting period. Horses have to pass a veterinary examination before the ride and after each loop. The cardiac recovery time (CRT) was calculated as the time (minutes and seconds) between the arrival at the end of the phase and the presentation to veterinary inspection (= "time in" in the FEI endurance rules). Endurance competitions are extremely difficult from a exercise ability and metabolic point of view, and so may require specific genetic background.

The genetic component explained a part of the diversity of physiological responses and performances in different breeds of horses. Several studies have demonstrated differences between breeds at the metabolic level (Castejón *et al.* 1994 ; Prince *et al.* 2002) and at the muscular level (Rivero *et al.* 1991, 1993) to identify relationship with performance in competition. However, the Arabian and Arabian crosses have the best records in endurance races. To improve the performance ability of horses by genetic selection, it is important to calculate heritability to determine if one trait can be efficiently improved by genetic selection.

Heritability is the ratio between genetic variance and the total variance including environmental effect. Heritability scores range from 0.0 to 1.0 with score less than 0.20 considered low heritability, scores of 0.21-0.40 as moderate heritability and scores above 0.40 as high heritability (Bailey 2014). In equestrian sports, heritability estimates for performance traits range from 0.05-0.28 for show jumping and 0.11 for dressage, to 0.15-0.55 for flat gallop racing and 0.17-0.26 for trot racing (Ricard *et al.* 2000). For endurance racing performance, heritabilities are 0.28 and 0.06 respectively for speed and placing in endurance rides of 90-160km (Ricard and Touvais 2007). For racing time, heritability was 0.32 in trotters. (Suontama *et al.* 2012) and 0.52 in Thoroughbred (Velie *et al.* 2014). At the cardiac and metabolic levels, heritabilities of speed at 200 beats/min (V200) and blood lactate concentration of 4 mmol/l (VL_{a4}) were 0.46 and 0.1 respectively in French trotters (Barrey *et al.*

1999). At the muscular level, heritability of the percentage of fast muscle fibres were $h^2=0.12$ and 0.15 in Anglo-Arabian and Andalusia horses, respectively (Barrey. 2010).

In endurance rides, the recovery heart rate (RHR) and cardiac recovery time (CRT) made up a significant part for racing classification. The acceptable RHR for a horse to be considered fit to continue the ride is typically 64 bpm or less within 20 minutes of arrival (FEI). The aim of this study was to estimate the heritability of recovery heart rate, cardiac recovery time and average speed in long distance endurance horses in order to evaluate the interest to include of these traits in breeding programs.

Materials and methods

Horses and data records:

Records from 132 official endurance competitions (80–160 km) from 2007 to 2011, were provided by the ATRM Systems Company, the official timing system on many endurance events. The data covered a total of 4421 entries corresponding to 2258 different horses (Table1)

Each individual record corresponded to a specific competition and included identification number of the horse, horse name, year of birth, gender, ride location, ride date and ride distance, rider, issue of the competition (classification or elimination and reason for elimination), average speed (AS), cardiac recovery time (CRT) and heart rate (HR) after each phase of the competition.

Table 1: Characteristics of the horses population

4 4 2 1 h o r s e s		Outcome of the race		Age (years)			Country	
Distance	Starts	Qualified	Eliminated	6-8	9-11	12-19	France	Spain- Portugal
80-119 km	1598	1098	500	1196	304	98	1598	0
120-139 km	1994	1184	810	777	861	356	1940	54
140-160 km	829	517	312	174	429	226	528	301
Total	4421	2799	1622	2147	1594	680	4066	355
Percentage	100	63.3	36.7	48.5	36	15.5	92	8

Statistical analysis

To calculate heritability (h^2) for each variable (AS, CRT and RHR) the variance components were analyzed using Restricted Estimator of Maximal Likelihood resolution (REML, VCE6) method with animal mixed model including fixed effects (country, ride distance, age, gender and outcome of the race) and random effect (*common environment effect and animal genetic effect) linked to the pedigree. Analysis was performed with and without inclusion of the maternal effect.

The following multi-trait animal model was used to describe the data:

$$Y_{ijklmnop} = \text{country}_i + \text{distance}_{ij} + \text{age}_{ijk} + \text{gender}_{ijkl} + \text{outcome of the race}_{ijklm} + \text{common environment effect}_{ijklmn} * + \text{additive genetic effect (animal)}_{ijklmno} * + \text{residual error}_{ijklmnop}.$$

where Y is the heritability and $ijklmnop$ are the interactions between fixed effects and random effect. Repeated dataset were included in statistical models.

Four statistical models were used to estimate heritability of recovery heart rate, average speed and cardiac recovery time:

Model 1: Variance = country + distance + age + outcome + gender + environment* + genetic*

Model 2: Variance = model 1 without gender effect

Model 3: Variance = model 1 without outcome effect

Model 4: Variance = model 1 without gender and outcome effect

(*) random effect

Results

Population data

Records for 2258 horses corresponding to 4421 individual entries in endurance events were analysed. The number of competitions per horse varied from 1 to 8 with 586 horses (2226 individual entries) that had participated in more than 2 competitions, on average 1.7 races per horses. There were 655 sires and 1744 different mothers represented with a mean of 18.5 products per sire (standard deviation = 12.76; min=2; max=47).

The analysis of variance revealed that all fixed (=non genetic) effect (country, distance, age, gender and outcome of the race) were significant for traits (AS, CRT and RHR) ($p < 0.001$) and could be included in the genetic models.

The best heritability (SE) estimates was found at cardiac recovery time (CRT): 0.46 (0.08) using the model 2 (without gender). For recovery heart rate (RHR) and average speed (AS), the highest heritability were calculated using the model 4 (without gender and outcome of the race) respectively 0.15 (0.02) and 0.12 (0.06), (Table 2). The phenotypic correlation between racing variables (AS, CRT and RHR) and performance indices of endurance competitions were presented in table 3.

Table 2: Mean (Standard error) values of heritabilities calculated for recovery heart rate (RHR), average speed (AS) and cardiac recovery time (CRT) according to the different statistical models.

Variance	Model	Heritability (SE)
RHR	Model 1	0.079 (0.023)
RHR	Model 2	0.081 (0.024)
RHR	Model 3	0.146 (0.029)
RHR	Model 4	0.148 (0.027)
AS	Model 1	0.112 (0.039)
AS	Model 2	0.113 (0.039)
AS	Model 3	0.120 (0.055)
AS	Model 4	0.124 (0.057)
CRT	Model 1	0.454 (0.078)
CRT	Model 2	0.459 (0.078)
CRT	Model 3	0.366 (0.085)
CRT	Model 4	0.362 (0.084)

Table 3: Phenotypic correlation between racing variables and performance indices of endurance horses.

Variables	performance indices of endurance competitions			
	IRE	Speed	Distance	Placing
AS	0.33**	0.43**	0.21**	0.22**
CRT	-0.22**	-0.21**	-0.19**	-0.19**
RHR	0.03*	0.01	0.04*	0.03*

IRE: The overall indice; AS: average speed; CRT: cardiac recovery time; RHR: recovery heart rate. *: $p < 0.05$; **: $p < 0.0001$.

Discussion

Several studies have estimated the heritability of different trait transmitted by parents in order to select the best racing horses. As far as we know, this is the first study to estimate the heritability of cardiac recovery components (CRT and RHR) in horses and in endurance. Indeed, the heart recovery is one of the key criteria of racing performance of endurance horses. It is evaluated regularly by veterinarians throughout the competition and participates in the classification of the horse after the ride.

The database included 4421 horses of known pedigrees representing 655 sires and 1744 different mothers with a mean of 18.5 products per sire. This represents an acceptable family relationship between horses compared with the study of Veli et al. 2014 (1071 sires for 4947 Thoroughbreds horses). On the other hand, only horses that raced in Europe (92% in France and 8% in Spain and Portugal) were included in this study to minimize the environment effects.

In literature, most studies have used the method of "Restricted Estimator of Maximal Likelihood (REML)" to estimate heritability (Bailey 2014; Burns et al. 2006; Gomez et al. 2010; Welsh et al. 2014). Indeed, The REML is the gold standard method because it can easily deal with variation in family sizes and differences in environmental factors (Bailey 2014; Weir 1996). This method (REML) allows the inclusion of fixed effects (country, ride distance, age, gender and outcome of the race) and random effects (environment effect and animal

genetic effect). In our study, a large part of the environmental effect was corrected by the country effect (92 % of horses have raced in France). We cannot include all effects in the statistical models because of the size of the population and the saturation of models with too much effects. However, the missing information like training level of horses was corrected by the age effect in the statistical models.

The heritability of cardiac components (CRT, RHR) and speed varied with statistical models (CRT: 0.36-0.45, RHR: .08-0.15, AS: 0.11-0.12). The highest heritability values were obtained using the model 2 (without gender effect) and model 4 (without gender and outcome effect) compared to general model (including all fixed effect). These results can be explained by a better correction of the variability of samples using models 2 and 4 compared to the general model. However, heritability of the different parameters appears homogenous and very similar regardless of the model used. This reflects the reliability of the method used and the acceptable accuracy (SE) of the results presented in this study.

More than 40% of CRT is hereditary in endurance horses. This information is very important of point of view of genetic selection in endurance horses. This high heritability of CRT is consistent with high heritability ($h^2=0.46$ (0.11)) of V200 (speed at 200 bpm) found in French Trotter (*Barrey et al. 1999*). However, the heritability of the RHR (12 %) is lower and is near of heritability of VL4 (Speed at 4 mmol of lactate, $h^2= 0.1$ (0.06)) found in French Trotter (*Barrey et al. 1999*). Differences in heritability estimates, may be suggest that environmental influences play a greater part in HRR than in CRT and AS.

The relatively low heritability value for RHR and speed can be explained by the selection already carried out for these traits in the population so that most individuals already have the requisite genes for the trait (*Ellersiek et al. 1985*). High heritability would be expected in a population with lots of variation for the trait whereas heritability would be low in a population with a very low frequency of alleles for this trait (*Bailey 2014*).

In men, the heritability of HRR was 30% during a treadmill exercise test (*Ingelsson et al .2007*). The HRR is considered as a good indicator of the degree of fatigue during endurance exercise; heart rate monitoring is therefore really important to assess different levels of fitness and cardiac performance (*Bitschnau et al. 2010*). Training can increase parasympathetic nervous system activity and

HRR is faster in highly trained individuals (*Hagberg et al. 1980; Javorka et al. 2002*). Indeed, the establishment of a genetic contribution to cardiac recovery also raises questions regarding the use of medications that enhance cardiac recovery. The use of medications that enhance cardiac recovery may lead to the promotion of the breeding of horses carrying a genetic susceptibility to this condition.

The estimated heritability of racing speed in this study was only 12% against 25% showed by *Ricard and Touvais (2007)*. This difference can be explained by the lower number of observations, the different distributions of the age, distance and country categories and finally the models of estimation. Other external factors such as temperature, humidity, different track quality and riding strategy may be influenced the estimate heritability but are not easy to include in the models as fixed effects (*Gomez et al. 2010*).

Conclusions

Cardiac recovery time (CRT) appears as highly heritable in endurance horses. The CRT is the good indicator of performance and selection of endurance horses. This high heritability is consistent with heritability of V200 found in French Trotter population and may indicate a putative quantitative trait linkage. The speed and heart rate recovery seem more influenced by training and environmental effects than the cardiac recovery time which is more influenced by genetics. This study indicated that CRT may be used for genetic selection for improving this trait. In future molecular genetic research targeting specific markers underlying the genetic basis of cardiac recovery, it would be interesting to identify specific physiological pathways that may be involved in the expression of this condition.

Acknowledgements

The authors are grateful to the ATRM system for the supply of the data used here. The present study is part of the GenEndurance project (<http://genendurance.over-blog.com/>). This project is financially supported by the IFCE (French National Stud), the Eperon Funds, the ACA (Arabian Horse Association) and the INRA.

References:

- Bailey, E. "Heritability and the Equine Clinician." *Equine Veterinary Journal* 46, no. 1 (January 2014): 12–14. doi:10.1111/evj.12196.
- Barrey, E. "Review: Genetics and Genomics in Equine Exercise Physiology: An Overview of the New Applications of Molecular Biology as Positive and Negative Markers of Performance and Health." *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 38 (November 2010): 561–68. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00299.x.
- Barrey, E., A. Courouce, B. Langlois, C. Blouin, and B. Auvinet. "Genetic Component of Exercise Test Parameters in French Trotters: First Estimations." In *Conference on Equine Sports Medicine and Science (CESMAS). Córdoba, Spain*, 219–23, 1998.
- Barrey, E., J. P. Valette, M. Jouglin, C. Blouin, and B. Langlois. "Heritability of Percentage of Fast Myosin Heavy Chains in Skeletal Muscles and Relationship with Performance." *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 30 (July 1999): 289–92.
- Bitschnau, C., T. Wiestner, D. S. Trachsel, J. A. Auer, and M. A. Weishaupt. "Performance Parameters and Post Exercise Heart Rate Recovery in Warmblood Sports Horses of Different Performance Levels." *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 38 (November 2010): 17–22. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00260.x.
- Burns, Eleanor M., Richard M. Enns, and Dorian J. Garrick. "The Effect of Simulated Censored Data on Estimates of Heritability of Longevity in the Thoroughbred Racing Industry." *Genetics and Molecular Research: GMR* 5, no. 1 (2006): 7–15.
- Castejón, F., D. Rubio, P. Tovar, M. Vinuesa, and C. Riber. "A Comparative Study of Aerobic Capacity and Fitness in Three Different Horse Breeds (Andalusian, Arabian and Anglo-Arabian)." *Zentralblatt Für Veterinärmedizin. Reihe A* 41, no. 9 (November 1994): 645–52.
- Ellersieck, M. R., W. E. Lock, D. W. Vogt, and R. Aipperspach. "Genetic Evaluation of Cutting Scores in Horses." *Journal of Equine Veterinary Science* 5, no. 5 (1985): 287–89.
- Gómez, M. D., A. Menendez-Buxadera, M. Valera, and A. Molina. "Estimation of Genetic Parameters for Racing Speed at Different Distances in Young and Adult Spanish Trotter Horses Using the Random Regression Model." *Journal of Animal Breeding and Genetics = Zeitschrift Für Tierzüchtung Und Züchtungsbiologie* 127, no. 5 (October 2010): 385–94. doi:10.1111/j.1439-0388.2010.00865.x.
- Hagberg, J. M., R. C. Hickson, A. A. Ehsani, and J. O. Holloszy. "Faster Adjustment to and Recovery from Submaximal Exercise in the Trained State." *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology* 48, no. 2 (February 1980): 218–24.
- Ingelsson, Erik, Martin G. Larson, Ramachandran S. Vasan, Christopher J. O'Donnell,

- Xiaoyan Yin, Joel N. Hirschhorn, Christopher Newton-Cheh, et al. "Heritability, Linkage, and Genetic Associations of Exercise Treadmill Test Responses." *Circulation* 115, no. 23 (June 12, 2007): 2917–24. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.106.683821.
- Javorka, M., I. Zila, T. Balhárek, and K. Javorka. "Heart Rate Recovery after Exercise: Relations to Heart Rate Variability and Complexity." *Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira De Pesquisas Médicas E Biológicas / Sociedade Brasileira De Biofísica ... [et Al.]* 35, no. 8 (August 2002): 991–1000.
- Prince, A., R. Geor, P. Harris, K. Hoekstra, S. Gardner, C. Hudson, and J. Pagan. "Comparison of the Metabolic Responses of Trained Arabians and Thoroughbreds during High- and Low-Intensity Exercise." *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 34 (September 2002): 95–99.
- Ricard, Anne, and Marie Touvais. "Genetic Parameters of Performance Traits in Horse Endurance Races." *Livestock Science* 110, no. 1–2 (June 2007): 118–25. doi:10.1016/j.livsci.2006.10.008.
- Ricard, A., Bruns, E., Cunningham, E.P., 2000. Genetics of performance traits. In: Bowling, A.T., Ruvinsky, A. (Eds.), *The Genetics of the Horse*. Cab international, pp. 411–438.
- Rivero, J. L., J. L. Morales-Lopez, A. M. Galisteo, and E. Agüera. "Muscle Fibre Type Composition in Untrained and Endurance-Trained Andalusian and Arab Horses." *Equine Veterinary Journal* 23, no. 2 (March 1991): 91–93.
- Rivero, J. L., A. L. Serrano, P. Henckel, and E. Agüera. "Muscle Fiber Type Composition and Fiber Size in Successfully and Unsuccessfully Endurance-Raced Horses." *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 75, no. 4 (October 1993): 1758–66.
- Suontama, M., J. H. J. van der Werf, J. Juga, and M. Ojala. "Genetic Parameters for Racing Records in Trotters Using Linear and Generalized Linear Models." *Journal of Animal Science* 90, no. 9 (September 2012): 2921–30. doi:10.2527/jas.2011-4526.
- Velie, B. D., H. W. Raadsma, C. M. Wade, P. K. Knight, and N. A. Hamilton. "Heritability of Epistaxis in the Australian Thoroughbred Racehorse Population." *Veterinary Journal (London, England: 1997)* 202, no. 2 (November 2014): 274–78. doi:10.1016/j.tvjl.2014.06.010.
- Welsh, Claire E., Thomas W. Lewis, Sarah C. Blott, Dominic J. Mellor, Anthony J. Stirk, and Timothy D. H. Parkin. "Estimates of Genetic Parameters of Distal Limb Fracture and Superficial Digital Flexor Tendon Injury in UK Thoroughbred Racehorses." *Veterinary Journal (London, England: 1997)* 200, no. 2 (May 2014): 253–56. doi:10.1016/j.tvjl.2014.03.005.
- Weir, B.S. (1996) *Genetic Data Analysis, Methods for Discrete Genetic Population Data*, Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

3.3. Conclusion de l'article et perspectives

Les résultats de cette étude confirment l'importance de la part génétique de la récupération cardiaque chez le cheval d'endurance. Le temps de récupération est héritable à 46 %, tandis que la FCR et la vitesse sont plus influencées par l'entraînement. Ainsi, le TRC peut être considéré comme un nouveau indice de la sélection génétique des meilleurs reproducteurs en endurance équestre.

D'après les résultats des trois premières études on peut conclure que:

- ✓ Le TRC est un paramètre déterminant de la performance en endurance équestre.
- ✓ Le TRC est un outil fiable pour la prédiction d'élimination en course d'endurance.
- ✓ Le TRC est héritable à 46 % et peut être considéré comme un nouveau indice de sélection.

Cependant, le temps de récupération cardiaque peut être influencé par plusieurs paramètres telles que: la durée de l'exercice, l'âge du cheval, le niveau d'entraînement ou encore les conditions environnementales (Marlin et al. 2001 ; McCutcheon et al. 2010).

D'autre part, chez l'homme, le temps de récupération cardiaque est en relation directe avec l'activation de la composante parasympathique du cœur.

Afin de vérifier cette relation chez le cheval d'endurance et de voir si le TRC est un outil fiable pour évaluer l'aptitude des jeunes chevaux, nous avons mené la quatrième étude. Cette étude, va nous permettre:

- ✓ D'étudier la VFC chez des jeunes chevaux d'endurance au repos, à l'effort et pendant la récupération.
- ✓ D'établir une relation entre la VFC et le TRC.
- ✓ D'évaluer les effets des conditions environnementales sur l'activité cardiaque.

4. Analyse de la variabilité de la fréquence cardiaque (VFC) au cours du repos, de l'effort et de la récupération chez des jeunes chevaux d'endurance.

4.1. Résumé

Les facteurs de variation de la variabilité de la fréquence cardiaque (VFC) ont été bien étudiés chez l'homme. Cependant, très peu d'études ont abordé la VFC chez le cheval et en particulier lors de l'effort d'endurance. L'objectif de cette étude est de déterminer l'effet de l'âge et du lieu des tests d'effort sur la VFC au repos, à l'exercice et pendant la récupération chez 77 chevaux d'endurance âgés de 4 ans (n=23), 5 ans (n=34) et 6 ans (n=20).

Des tests d'effort standardisés (SET) sur le terrain ont été réalisés dans 4 régions différentes en France. Le SET consistait en 15 min (4 ans), 30 min (5 ans) et 45 min (6 ans) de galop à une vitesse moyenne de 22 km.h⁻¹ suivi de 500 m de sprint à vitesse maximale. L'analyse des enregistrements cardiaques (intervalles RR) dans les domaines temporel (point carré plot) et fréquentiel (SPWVD) a permis d'obtenir des composantes instantanées de la puissance spectrale de la VFC en basse fréquence (LF) et en haute fréquence (HF).

Au repos et à l'exercice, la FC et la RMSSD (Racine carrée de la moyenne des carrés des différences des intervalles RR successifs) diminuent en fonction de l'âge. D'autre part, la RMSSD diminue en fonction de la durée de l'exercice seulement chez les chevaux de 6 ans. Pendant la récupération, la RMSSD est inversement corrélée avec le temps de récupération cardiaque et la FC de récupération. Les différentes composantes de la VFC (RMSSD, LF et HF) varient significativement en fonction du lieu de test.

La VFC en général et la RMSSD en particulier varient en fonction de l'âge et des conditions environnementales (température et humidité). Par ailleurs, les conditions des tests d'effort doivent être standardisées pour évaluer de façon fiable la performance des chevaux.

Mots clés : Age, durée de l'exercice, lieu de test, performance.

4.2. Publication

Effects of age, exercise duration and test conditions on heart rate variability in young endurance horses

Mohamed Younes⁴, Céline Robert^{2, 3}, Eric Barrey^{1, 2}, François Cottin⁴

¹UBIAE, Université d'Evry Val d'Essonne, France

²INRA, GABI, UMR1313, Jouy-en-Josas, France

³Université Paris-Est, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, France

⁴EA4532 CIAMS, Université Paris Sud, France

Corresponding author:

Mohamed YOUNES, Université d'Evry Val d'Essonne, Département STAPS, Bd F Mitterrand, 91025 Evry cedex, France

Mohamed7.younes@gmail.com

+33632295517

Statut: publication soumise à Frontiers in Physiology (IF : 3.5), 30 Octobre 2015.

Abstract

Purpose

Although cardiac recovery is an important criterion for rating horses in endurance competitions, heart rate variability (HRV) has hardly ever been studied in the context of this equestrian discipline. The main objective of the present study was to determine the effects of age, exercise duration and test site on HRV variables at rest and during exercise and recovery in young Arabian endurance horses.

Methods

Over a three-year period, 77 young Arabian horses performed one or more exercise tests (consisting of a warm-up, cantering at 22 km.h⁻¹ and a final 500m gallop at full speed) at four different sites. Beat-to-beat RR intervals were continuously recorded and then analyzed (using a time-frequency approach) to determine the instantaneous HRV components before, during and after the test.

Results

Both at rest and during exercise, the heart rate and the root-mean-square of successive differences in RR intervals (RMSSD) decreased with age. In 6-year-olds, RMSSD decreased as the exercise duration increased. During recovery, RMSSD was negatively correlated with the cardiac recovery time and the recovery heart rate ($R=-0.5$, $p<0.05$). At rest and during exercise and recovery, RMSSD and several HRV variables differed significantly as a function of the test condition.

Conclusions

HRV in endurance horses appears to be strongly influenced by age and environmental factors (such as ambient temperature, ambient humidity and track quality). Accordingly, exercise test conditions must be standardized when evaluating the fitness of endurance horses.

Key words: performance, rest, exercise, cardiac recovery, speed, training

Introduction

Equestrian endurance competitions (ranging in distance from 80 to 160km) are split into successive phases of approximately 30 to 40km. At the end of each phase, horses are checked in a veterinary inspection (referred to as a "vet gate"). Heart rate (HR) is considered to be a reliable indicator of fatigue during endurance events. Horses with an HR above 64 beats.min⁻¹ at a vet gate are eliminated from the competition (FEI, 2014: <http://www.fei.org/fei/regulations/endurance>). HR is controlled by a balance between the parasympathetic and the sympathetic efferent activities: the sympathovagal balance. Heart rate variability (HRV) analysis is a useful tool for quantifying cardiac autonomic control at rest (Filliau et al. 2014a) and during exercise in humans (Cottin et al. 2007; Cottin et al. 2008; Filliau et al. 2014b) and other animals (including horses (Kuwahara et al. 1999)).

HRV is influenced by several parameters, such as the fitness level and the intensity of exercise training. In horses (Kuwahara et al. 1999; Couroucé et al. 2002) and humans (Carter et al. 2003b; Carter et al. 2003a), it has been shown that long-duration training is associated with (i) a decrease in HR during exercise and recovery and (ii) an increase in HRV at a given running speed. Accordingly, HRV might be used to evaluate the fitness level in endurance horses and perhaps to detect young horses with the greatest athletic potential.

In humans, HRV is strongly influenced by age: it has been shown that the HR falls progressively from childhood to adolescence, whereas the amplitude of HRV increases (Silvetti et al. 2001). In adults, a decrease in the parasympathetic modulation of HR entails a decrease in HRV amplitude with age (Carter et al. 2003b; Antelmi et al. 2004). However, exercise training slows this age-related decrease in HRV (Tulppo et al. 1998; Carter et al. 2003b). There are few literature data on the effect of a horse's age on HRV. A study of Standardbred horses (Betros et al. 2002) reported that maximum HR, VO₂max and the speeds at HR max and VO₂max were similar in young horses (6.8 ± 0.4 years) and middle-aged horses (15.2 ± 0.4 years) but were lower in older horses (27.0 ± 0.2 years). This decline in physical fitness in old horses may be due to a lower thermoregulatory capacity (McKeever et al. 2010). Seeherman and Morris (1991) showed that HR max did not change with age in yearling vs. adult thoroughbred

horses, whereas aerobic power and exercise capacity increased with age and training.

Given that left ventricular volume and stroke volume are greater in 6-year-old endurance horses than in 4-year-olds (Trachsel et al. 2014), we hypothesized that the amplitude of HRV would also be greater in 6-year-olds than in 4-year-olds.

Hence, the main objective of the present study was to determine the effects of age and test site on HRV variables at rest and during exercise and recovery in young endurance horses.

Methods

Horses

Between 2012 and 2014, 96 Arabian and Arabian cross endurance horses participated in the study. The horses were aged between 4 and 6 and came from across France. Nineteen of the tested horses were excluded from the final analysis, due to either poor-quality cardiac recordings (n=18) or failure to complete the test (lameness, n=1). The characteristics of the remaining 77 horses are presented in Table 1 by age and by test site.

Information on each horse's training and racing profile (such as the number of races, the total distance covered during races and the weekly duration of training) was obtained from the French Equestrian Federation's database (FFE compet) or a questionnaire filled out by the owner.

The study was approved by the local institutional ethics committee (ComEth ANSES/ENVA/UPEC, Maisons-Alfort, France; approval number: 12/07/11-1) and meet this journal's ethical standards. All horse owners provided their written, informed consent and were told that they could withdraw their horse from the study at any time.

Experimental design

Exercise tests were performed in groups (composed of 2 or 3 horses of the same age) on circular training tracks with a good surface (Table 1). The exercise test began with a 15-minute warm-up (10 minutes of walking and 5 minutes of trotting). The horses then performed an exercise test consisting of 15 minutes (T), 30 minutes (2T) and 45 minutes (3T) of constant-speed cantering for 4-

year-olds, 5-year-olds and 6-year-olds, respectively. The riders were asked to canter their horses at 22 km/h (approximately 110 strides per minute). The test ended with a 500m gallop at full speed (Fig 1).

Measurements

RR intervals were recorded at rest and during the whole exercise test with heart rate monitors (Polar S-810, Kempele, Finland). The Polar S-810 records successive RR intervals with a precision of one ms. The running speed and distance covered were recorded using the global positioning system (the Minimax GPS from Catapult Sports, Victoria, Australia).

Signal processing

RR series extraction

Occasional ectopic beats (artefacts, cumulative RR periods and extrasystoles) were identified visually and manually replaced with interpolated adjacent R-R interval values. The RR recordings were then split into 15-minute sequences at rest and during exercise (T, 2T and 3T) and recovery. Each RR sequence was analyzed using temporal and time-frequency approaches. There were not enough successive RR intervals during the final full-speed gallop to compute the smoothed pseudo-Wigner-Ville distribution (SPWVD).

Descriptive statistical analysis and recovery indexes

Temporal analysis of RR series

The mean RR interval and the standard deviation (SD) and the root-mean-square differences of successive RR intervals (RMSSD) were calculated for each 15-minute sequence.

$$\text{RMSSD} = \sqrt{\frac{1}{N-1} \left[\sum_{i=1}^{N-1} (RR_{i+1} - RR_i)^2 \right]}$$

Where N = number of R-R interval terms

The recovery sequences were specifically analyzed for two recovery variables: the cardiac recovery time (CRT) and the recovery heart rate (RHR). The CRT was calculated as the time difference between the end of exercise and the first instantaneous HR value lower or equal to 64 beats.min⁻¹ (Figure 1). The RHR

was defined as the first instantaneous HR value recorded after stabilization of the cardiogram (Figure 1).

Poincaréplot analysis

The Poincaréplot consists in plotting each RR interval as a function of the previous RR interval (Fig. 2). The shape of the resulting scatter plot makes possible to classify HRV visually (Cottin et al. 2004). The RR interval typically appears as an elongated cloud of points oriented along the line of identity. If the scatter plot is ellipsoidal, the shape can be quantified by calculating the ellipse's width (SD1) and the length (SD2) (Cottin et al. 2004). SD1 highlights the dispersion of the points perpendicular to the line of identity and serves as an index of the rapid HR variability. SD2 highlights the dispersion of the points along the line of identity and serves as an index of slow variability (Brennan et al.

2001). Given that SD1 is equal to $\frac{RMSSD}{\sqrt{2}}$, it provides the same information (proportionally) as RMSSD. Hence, we did not compute SD1 per se in the present study.

Time frequency analysis of RR series according to the SPWVD

An SPWVD time-frequency analysis was used to compute the instantaneous components of HRV. The SPWVD technique is more accurate than the short-time Fourier transform (STFT) when analysing non-stationary RR series.

The SPWVD analysis was performed with a cardiovascular toolbox developed in a SCILAB environment (INRIA, France). The SPWVD provides a continuous evaluation of the amplitude and frequency and yield a near-instantaneous complex spectrum for each beat. High resolution is achieved by independent time and frequency smoothing. In line with current standards (Camm et al. 1996; Cottin et al. 2005), the instantaneous time frequency components were computed for the low-frequency (0.04 to 0.15 Hz) and high-frequency (0.15 to 2 Hz) bands of the HRV. The spectral power was computed in LF and HF ranges (spectral components) by integrating the power spectral density (PSD) as follows:

$$LF = \sum_{f=0.04}^{0.15} PSD.\Delta f \quad \text{and} \quad HF = \sum_{f=0.15}^2 PSD.\Delta f \quad (ms^2)$$

Furthermore, the LF and HF components were normalized as follows:

$$LFnu = 100.LF / (LF + HF) \% \quad \text{and} \quad HFnu = 100.HF / (LF + HF) \%$$

Statistics

When data were distributed normally, a two-way analysis of variance was used to compare the cardiac variables of HRV as a function of the age category and test site (A, C2, C1, L) or of the age and exercise duration (T, 2T and 3T). When data were not distributed normally, a Mann-Whitney rank sum test was applied. Spearman's rank order correlation was also calculated. All analyses were performed with Sigma Stat software (version 3.5, 2007, Systat Software Inc. San Jose, CA, USA). The threshold for statistical significance was set to $p < 0.05$.

Results

All horses were able to complete the exercise test without any adverse events. Only 13% of the horses participated in two or three tests, and these repetitions did not significantly influence the study results. As would be expected, the number of races increased with the horse's age: the 4-, 5- and 6-year-olds had participated in 1.5 ± 1.5 , 3.7 ± 2.2 and 7.0 ± 3.3 races, respectively. This corresponded to a total distance raced of 30 ± 29 km, 98 ± 63 km and 277 ± 134 km, respectively. However, there was no difference between the 4-, 5- and 6-year-olds in terms of the mean \pm SD weekly training duration ($4:01 \pm 2:50$ hours, $4:00 \pm 1.41$ hours and $4:41 \pm 1.35$ hours, respectively). When analysing the HRV variables, there was no significant effect of the training level and the year of testing.

Effects of age

At rest. The RMSSD was higher in the 4-year-olds than in the 5- or 6-year-olds (Table 2, Figure 2). There were no significant intergroup differences in the other

HRV variables (HR, LF, HF, LF/HF, LFnu or HFnu; Table2). At rest, the 4-year-olds had a greater HRV amplitude than the 5- or 6-year-olds.

During exercise. There was no significant effect of age on the average cantering speed (Figure 3), which was very stable. During the first 15 minutes of exercise (period T), the HR and RMSSD were higher for the 4-year-olds than for the 5- and 6-year-olds (Table 3, Figure 2). There were no significant intergroup differences in the other HRV variables (LF, HF, LF/HF, LFnu or HFnu). Only the 5- and 6-year-olds ran for an additional 15 minutes (2T). The HR was higher in the 5-year-olds than in the 6-year-olds (Table 4) but there were no significant intergroup differences in the other HRV components (LF, HF, LF/HF, LFnu and HFnu).

During recovery. CRT and RHR were inversely correlated with RMSSD ($R = -0.5$; $p < 0.001$). As a result, horses with a higher RMSSD recovered more quickly and had a lower RHR (Fig4).

Effects of test site

At rest. Significant effects of the test site were observed for a few HRV variables (Table 2).

During exercise. During the first 15 minutes of exercise (T), the mean running speed and RMSSD varied according to the test site (Table 3). The running speed was higher at sites A and C1 than at sites C2 and L. The RMSSD was higher at site A than at sites C2, L and C1. There were no differences between the test sites in terms of the other HRV variables (LF, HF, LF/HF, LFnu and HFnu, Table 3). For the 5- and 6-year-olds, the mean running speed and HR during the additional 15 minute bout (2T) were higher at site C1 than other sites (C2 and L) (Table 4). However, the LF power of HRV was higher at site C2 than at sites L and C1. There were no significant differences between the test sites in terms of the other HRV variables (LF, HF, LF/HF, LFnu and HFnu, Table 4).

During recovery. CRT was lower at sites C2 and A than at sites L and C1 (Table 5). The recovery RMSSD was higher at C2 than at A, L and C1 (Table 5). The LF power during recovery was higher at C2 than at A, L and C1. There were no significant differences between the test sites in terms of the other HRV variables (HF, LF/HF, LFnu and HFnu).

Effects of the exercise duration

The 5- and 6-year-olds cantered for at least 30 minutes (2T) and only the 6-year-olds cantered for 45 minutes (3T). Therefore, the effect of the exercise duration on HRV components could not be tested in the 4-year-olds. In the 5-year-olds, we did not observe a significant effect of exercise duration on the average cantering speed or any of the HRV components when comparing T and 2T durations (Table 6). In the 6-year-olds, RMSSD was lower in 3T than in 2T and T, with no difference between 2T and T. SD2 was higher for T than for 2T and 3T. There were no differences in the other HRV components (LF, HF, LF/HF, LFnu and HFnu) when comparing T, 2T and 3T in the 6-year-old group (Table 6).

Discussion

The exercise test

The field exercise test duration was chosen as a function of the horse's age, category and physical ability, in order to avoid accidents and decrease the likelihood of post-test metabolic disorders. However, the field exercise test has a number of limitations relative to laboratory-based exercise conditions (such as treadmill tests) because it was not possible to fully control the cantering speed or the environmental conditions. Nevertheless, we did not observe a significant difference in the average speed when comparing the three age groups. However, the average cantering speed varied slightly according to the test conditions. An increase in speed caused an increase in heart rate and thus a decrease in the various HRV components.

Methods of HRV analysis

Blocksof 15-minute RR recordings at rest and during exercise and recovery were analyzed with methods for quantifying HRV in a nonlinear analysis (the Poincaréplot) and in the time-frequency domain (computation of the SPWVD). The major advantages of the Poincaréplot are its ability to provide an overall preview of HRV and its relative insensitivity to the recording quality of the RR intervals. This method has been used to study the effect of age and physical fitness on HRV components in humans (Tulppo et al. 1998) and to test the effect of exercise repetitions on recovery in the horse (Cottin et al. 2006).

The SPWVD technique is more accurate than STFT for time-frequency analysis. STFT is confronted by the Heisenberg-Gabor uncertainty principle, which states

that when the accuracy in the time domain is high, the accuracy in the frequency domain is low (and vice versa). In contrast, SPWVD has identical levels of accuracy in both the time and frequency domains – making it more able to cope with non-stationarity. Hence, this type of time-frequency method is very suitable for analyzing time series during exercise (Cottin et al. 2008; Filliau et al. 2014).

Effects of age

There are few published data on the effect of a horse's age on HRV. At rest, some studies have shown that the HR decreases and the RMSSD increases between the ages of 9 and 22 months (Visser et al. 2002). The results of the present study show that in older horses (aged 4 to 6), HR at rest did not significantly vary with age, whereas RMSSD decreased with increasing age. The discrepancy between Visser et al.'s findings and our findings may be attributed to inter study differences in age and breed (Dutch Warmbloods under the age of 2 and 4- to 6-year-old Arabian horses, respectively). In humans, it is well known that HR and the amplitude of HRV (particularly the HF modulation of HRV, related to respiratory sinus arrhythmia) decrease between adolescence and old age (Brandenberger et al. 2003; Filliau et al. 2014a). The lack of such changes in the present equine study is probably due to the smaller relative age difference and similar levels of physical fitness in the horses we analyzed. However, we did observe a lower RMSSD in 6-year-olds than in 4-year-olds; this may correspond to the start of an age-related decrease in HRV similar to that observed in humans (Silvetti et al. 2001; Brandenberger et al. 2003; Filliau et al. 2014a).

We found that the HR during exercise was highest in the youngest horses. Firstly, the HR was higher in 4-year-olds than in 5- and 6-year-olds during the first 15 minutes of cantering; secondly, the HR was higher in 5-year-olds than in 6-year-olds during a 30-minute canter. In a study of endurance horses, Trachsel et al. (2014) have shown that heart size and stroke volume increased between the ages of 4 and 6 (Trachsel et al. 2014). However, a study in Standard bred horses (Betros et al. 2002) reported that HR max, VO₂max and the velocities at HR max and VO₂max were similar in young and middle-aged horses but were lower in old horses.

In the present study, the cantering speed during the exercise test was stable and regular (22 km.h⁻¹); one can therefore reasonably assume that the tested horses' cardiac outputs were similar. Hence, for a given cardiac output, a higher

stroke volume was probably associated with a lower HR in the older horses. Furthermore a study of event horses showed that individuals with a lower HR during a standardized exercise test were best ranked in competitions (Auvinet et al. 1991). Thus, the 6-year-olds in the present study appeared to be fitter than the younger horses.

In horses and humans, the RHR and CRT are reliable indices of the training level and cardiac health (Tomlin and Wenger 2001; Borresen and Lambert 2008). During acute exercise, recovery variables may be provide useful markers of fatigue in horses (Cottin et al. 2006; Hada et al. 2006; Bitschnau et al. 2010). In a study of endurance horses, Madsen et al.(2014) reported that the CRT (i) was lowest in the most trained individuals and (ii) increased with the exercise intensity. In the present study, it was difficult to draw solid conclusions concerning post-exercise cardiac recovery as a function of age because the exercise duration differed from one age group to another. However, horses with the lowest RHR and CRT values recovered fastest and had the highest recovery RMSSD. Indeed, we found that RMSSD was negatively correlated with RHR and CRT. Accordingly, RMSSD (a vagal component) may be a reliable, useful index of post-exercise cardiac recovery in endurance horses.

Effects of test site

As expected, the test site influenced the HRV components and the speed. The weather conditions (particularly the ambient temperature and track quality) might have had an effect on the HRV components. It has been shown (McConaghy et al. 1996) that ponies were able to maintain body temperature in a hot environment by increasing blood flow to the tissues involved in heat dissipation, whereas blood flow to all other tissues remained stable. This was achieved by increasing the cardiac output while not reducing blood flow to other tissues. Thus, an increase in the ambient temperature and humidity might induce an increase in HR. Although the ambient temperature was highest and horses displayed the highest resting HR at test site A(27°C), the horses at site L displayed a similar resting HR ata lower ambient temperature (18°C) and a higher humidity level (73%, vs. 40% at site A. It has been shown that horses in a hot, humid environment breathe more rapidly than in cold conditions (Marlin et al. 2001). Furthermore, hot, humid conditions increase the risk of metabolic failure during endurance competitions via electrolyte depletion and disruption of

thermoregulatory mechanisms (Robert et al. 2010). Therefore, this study confirms the hypothesis where by weather conditions have a direct impact on performance in endurance competitions (Marlin et al. 1995; McCutcheon and Geor 2010; Nagy et al. 2014).

However, differences in weather conditions cannot fully explain the observed differences in HRV components. The running speed was higher at sites A and C1 than at sites C2 and L. Other research has shown that the ground surface has an effect on stride parameters (Setterbo et al. 2009). A difference in the type of track surface (hard at sites A and C2 and soft at sites C1 and L) may account for some of the observed differences between test sites. A further explanatory factor may be the horses' age distribution; the 4-year old horses were less well trained, making it is more difficult to control their speed. This may explain why the speed was higher at site A, where the horses were younger. It is noteworthy that the highest HRV (RMSSD) value was reported at site A (i.e. with younger horses and the highest mean cantering speed).

Effects of exercise duration

The effects of exercise duration were investigated in the 5-year-olds (T vs. 2T) and in the 6-year-olds group (T vs. 2T vs. 3T). We found that both SD2 and RMSSD decreased with duration. SD2 is proportional to the long-term variability in an RR series (Brennan et al. 2001), and RMSSD reflects the breathing modulation of HR. In humans, SD2 and RMSSD (SD1) were markedly lower during a progressive vagal blockade by atropine infusion (Tulppo et al. 1996). During complete vagal blockade, both SD2 and RMSSD fell as the exercise intensity increased (up until VO₂max)(Tulppo et al. 1996). Furthermore, it has been shown (Hautala et al. 2001) that both RMSSD and SD2 are significantly lower during the first night after a 75 km cross-country skiing race than during the night before the race. It has therefore been suggested that RMSSD and SD2 are valuable markers of fatigue and vagal withdrawal during exercise in humans. In horses, it has been demonstrated that RMSSD decreased during intermittent, high-speed trotting, whereas SD2 remained stable (Cottin et al. 2006). However, SD2 decreased during the repeated recoveries (Cottin et al. 2006). Our present findings confirm these results; low RMSSD (or SD1) and SD2 values may be reliable markers of fatigue and poor recovery in endurance horses.

Conclusion

In a study of 4- to 6-year-old endurance horses, we found that the HR and HRV at rest and during exercise decreased with age. Furthermore, the HRV decreased as the exercise duration increased. As observed in humans, the RMSSD component may be a reliable, useful index of fatigue and recovery in endurance horses. However, the measured HRV components appear to be strongly influenced by the environmental recording conditions (such as ambient temperature, humidity and the type of track surface).

Aknowledgments:

We greatly acknowledge the horse's trainers, owners and riders of each training centers A, C1, C2 and L. This study received the financial support of IFCE, Fond Eperon, ACA, ENVA and INRA

References

- Antelmi I, de Paula R, Shinzato A, et al (2004) Influence of age, gender, body mass index, and functional capacity on heart rate variability in a cohort of subjects without heart disease. *Am J Cardiol* 93:381–385. doi: 10.1016/j.amjcard.2003.09.065.
- Auvinet B, Galloux P, Michaux JM, et al (1991) Test d'effort standardisé de terrain pour chevaux de concours complet (TEST). *Sci Sports* 6:145–152.
- Betros CL, McKeever KH, Kearns CF, Malinowski K (2002) Effects of ageing and training on maximal heart rate and VO₂max. *Equine Vet J Suppl* 100–105.
- Bitschnau C, Wiestner T, Trachsel DS, et al (2010) Performance parameters and post exercise heart rate recovery in Warmblood sports horses of different performance levels. *Equine Vet J Suppl* 17–22. doi: 10.1111/j.2042-3306.2010.00260.x.
- Borresen J, Lambert MI (2008) Autonomic control of heart rate during and after exercise : measurements and implications for monitoring training status. *Sports Med Auckl NZ* 38:633–646.
- Brandenberger G, Viola AU, Ehrhart J, et al (2003) Age-related changes in cardiac autonomic control during sleep. *J Sleep Res* 12:173–180.
- Brennan M, Palaniswami M, Kamen P (2001) Do existing measures of Poincaré plot geometry reflect nonlinear features of heart rate variability? *IEEE Trans Biomed Eng* 48:1342–1347. doi: 10.1109/10.959330.
- Camm AJ MM, Bigger JT, Breithardt G, Cerutti S, Cohen RJ, Coumel P, Fallen EL, Kennedy HL, Kleiger RE, Lombardi F, Malliani A, Moss AJ, Rottman JN, Schmidt G, Schwartz PJ, Singer D 1996 Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circulation* 93: 1043-1065.
- Carter JB, Banister EW, Blaber AP (2003a) The effect of age and gender on heart rate variability after endurance training. *Med Sci Sports Exerc* 35:1333–1340. doi: 10.1249/01.MSS.0000079046.01763.8F.
- Carter JB, Banister EW, Blaber AP (2003b) Effect of endurance exercise on autonomic control of heart rate. *Sports Med Auckl NZ* 33:33–46.
- Cottin F, Barrey E, Lopes P, Billat V (2006) Effect of repeated exercise and recovery on heart rate variability in elite trotting horses during high intensity interval training. *Equine Vet J Suppl* 204–209.

- Cottin F, Durbin F, Papelier Y (2004) Heart rate variability during cycloergometric exercise or judo wrestling eliciting the same heart rate level. *Eur J ApplPhysiol* 91:177–184. doi: 10.1007/s00421-003-0969-1.
- Cottin F, Médigue C, Lopes P, et al (2005) Effect of exercise intensity and repetition on heart rate variability during training in elite trotting horse. *Int J Sports Med* 26:859–867. doi: 10.1055/s-2005-837462.
- Cottin F, Médigue C, Papelier Y (2008) Effect of heavy exercise on spectral baroreflex sensitivity, heart rate, and blood pressure variability in well-trained humans. *Am J Physiol Heart CircPhysiol* 295:H1150–H1155. doi: 10.1152/ajpheart.00003.2008.
- Cottin F, Slawinski J, Lopes P, et al (2007) Effect of a 24-h continuous walking race on cardiac autonomic control. *Eur J ApplPhysiol* 99:245–250. doi: 10.1007/s00421-006-0341-3.
- Couroucé A, Chrétien M, Valette JP (2002) Physiological variables measured under field conditions according to age and state of training in French Trotters. *Equine Vet J* 34:91–97.
- Filliau C, Landrain M, Van De Louw A, Cottin F (2014a) Slow wave sleep detection from time frequency analysis of heart rate variability. *ExpClinCardiol* 20: 6514-6522.
- Filliau C, Landrain M, Van de Louw A, Cottin F (2014b) Heart rate at minimal high frequency power of heart rate variability during cycling *ExpClinCardiol*20: 6505-6513.
- Hada T, Ohmura H, Mukai K, et al (2006) Utilisation of the time constant calculated from heart rate recovery after exercise for evaluation of autonomic activity in horses. *Equine Vet J Suppl* 141–145.
- Harriss DJ, Atkinson G (2013) Ethical standards in sport and exercise science research: 2014 update. *Int J Sports Med* 34:1025–1028. doi: 10.1055/s-0033-1358756.
- Hautala A, Tulppo MP, Mäkikallio TH, et al (2001) Changes in cardiac autonomic regulation after prolonged maximal exercise. *ClinPhysiolOxfEngl* 21:238–245.
- Kuwahara M, Hiraga A, Kai M, et al (1999) Influence of training on autonomic nervous function in horses: evaluation by power spectral analysis of heart rate variability. *Equine Vet J Suppl* 178–180.
- Madsen M, Kanters J, Buhl R (2014) Heart Rate Recovery Time in Exercise Testing of Endurance Horses. *Equine Vet J* 46:7–7. doi: 10.1111/evj.12267_19.
- Marlin DJ, Harris PA, Schroter RC, et al (1995) Physiological, metabolic and biochemical responses of horses competing in the speed and endurance phase of a CCI*****3-day-event. *Equine Vet J Suppl* 37–46.
- Marlin DJ, Schroter RC, White SL, et al (2001) Recovery from transport and acclimatisation of competition horses in a hot humid environment. *Equine Vet J* 33:371–379.
- McConaghy FF, Hodgson DR, Rose RJ, Hales JR (1996) Redistribution of cardiac output in response to heat exposure in the pony. *Equine Vet J Suppl* 42–46.
- McCutcheon LJ, Geor RJ (2010) Effects of short-term training on thermoregulatory and sweat responses during exercise in hot conditions. *Equine Vet J Suppl* 135–141. doi: 10.1111/j.2042-3306.2010.00235.x.

- McKeever KH, Eaton TL, Geiser S, et al (2010) Age related decreases in thermoregulation and cardiovascular function in horses. *Equine Vet J Suppl* 220–227. doi: 10.1111/j.2042-3306.2010.00259.x.
- Nagy A, Murray JK, Dyson SJ (2014) Horse-, rider-, venue- and environment-related risk factors for elimination from Fédération Equestre Internationale endurance rides due to lameness and metabolic reasons. *Equine Vet J* 46:294–299. doi: 10.1111/evj.12170.
- Robert C, Goachet AG, Fraipont A, et al (2010) Hydration and electrolyte balance in horses during an endurance season. *Equine Vet J Suppl* 98–104. doi: 10.1111/j.2042-3306.2010.00198.x.
- Seeherman HJ, Morris EA (1991) Comparison of yearling, two-year-old and adult Thoroughbreds using a standardised exercise test. *Equine Vet J* 23:175–184.
- Setterbo JJ, Garcia TC, Campbell IP, et al (2009) Hoof accelerations and ground reaction forces of Thoroughbred racehorses measured on dirt, synthetic, and turf track surfaces. *Am J Vet Res* 70:1220–1229. doi: 10.2460/ajvr.70.10.1220.
- Silvetti MS, Drago F, Ragonese P (2001) Heart rate variability in healthy children and adolescents is partially related to age and gender. *Int J Cardiol* 81:169–174.
- Tomlin DL, Wenger HA (2001) The Relationship Between Aerobic Fitness and Recovery from High Intensity Intermittent Exercise: *Sports Med* 31:1–11. doi: 10.2165/00007256-200131010-00001.
- Trachsel D, Giraudet A, Hervé G, et al (2014) Evolution of Echocardiographic Dimensions with Age and Training in Young Endurance Horses. *Equine Vet J* 46:26–26. doi: 10.1111/evj.12267_78.
- Tulppo MP, Mäkikallio TH, Seppänen T, et al (1998) Vagal modulation of heart rate during exercise: effects of age and physical fitness. *Am J Physiol* 274:H424–429.
- Tulppo MP, Mäkikallio TH, Takala TE, et al (1996) Quantitative beat-to-beat analysis of heart rate dynamics during exercise. *Am J Physiol* 271:H244–252.
- Visser EK, van Reenen CG, van der Werf JTN, et al (2002) Heart rate and heart rate variability during a novel object test and a handling test in young horses. *Physiol Behav* 76:289–296.

Figure captions

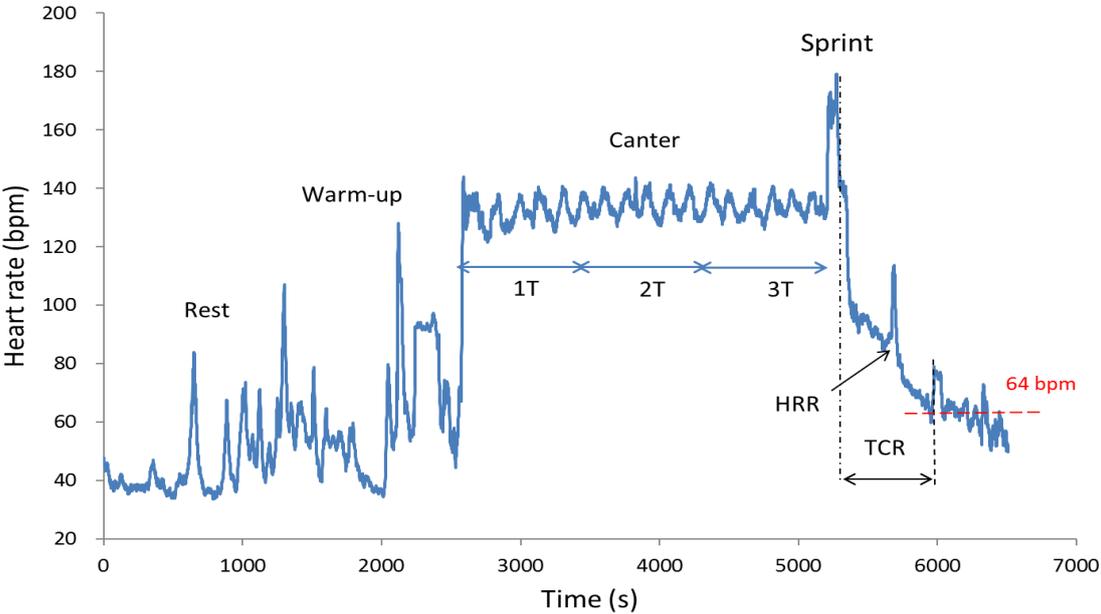


Figure 1. Typical HR data recorded during a standardized field exercise test of a six-year-old endurance horse. T = 15 minutes (900 seconds). RHR: recovery heart rate. CRT: cardiac recovery time.

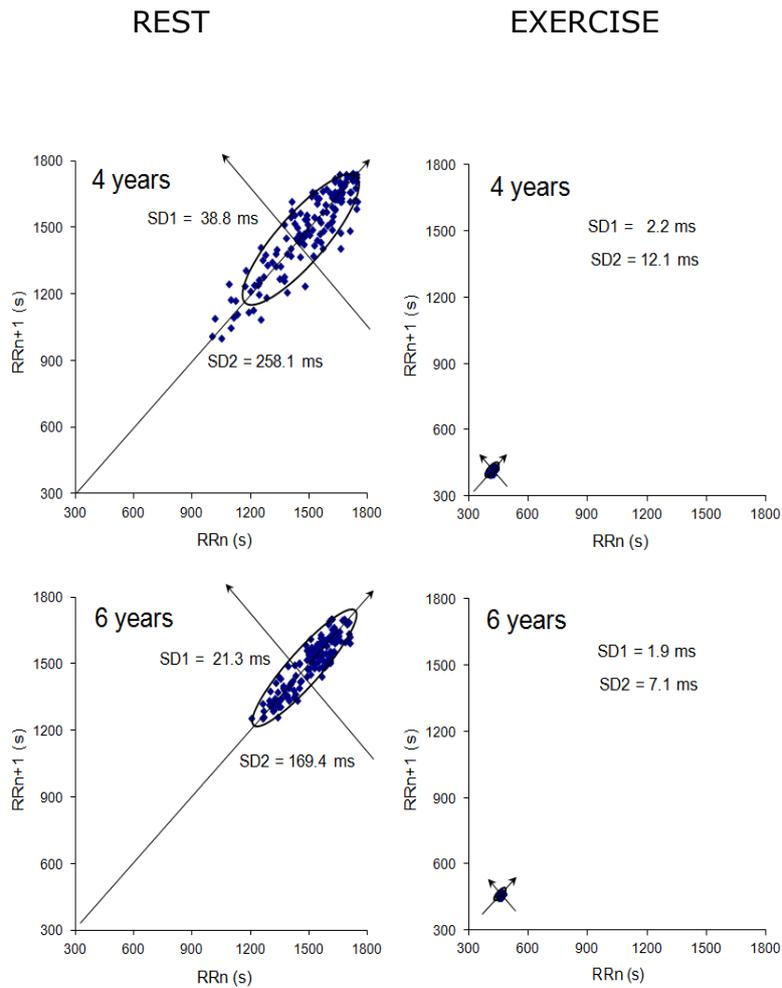


Figure 2. Typical examples of Poincaré plots at rest and during exercise (for a 4-year-old in the top panel and a 6-year-old in the bottom panel). SD1 (the standard deviation of instantaneous variability) and SD2 (the standard deviation of continuous variability) are indicated on each plot. SD1 is lower in the 4-year-old than in the 6-year-old ($p < 0.05$).

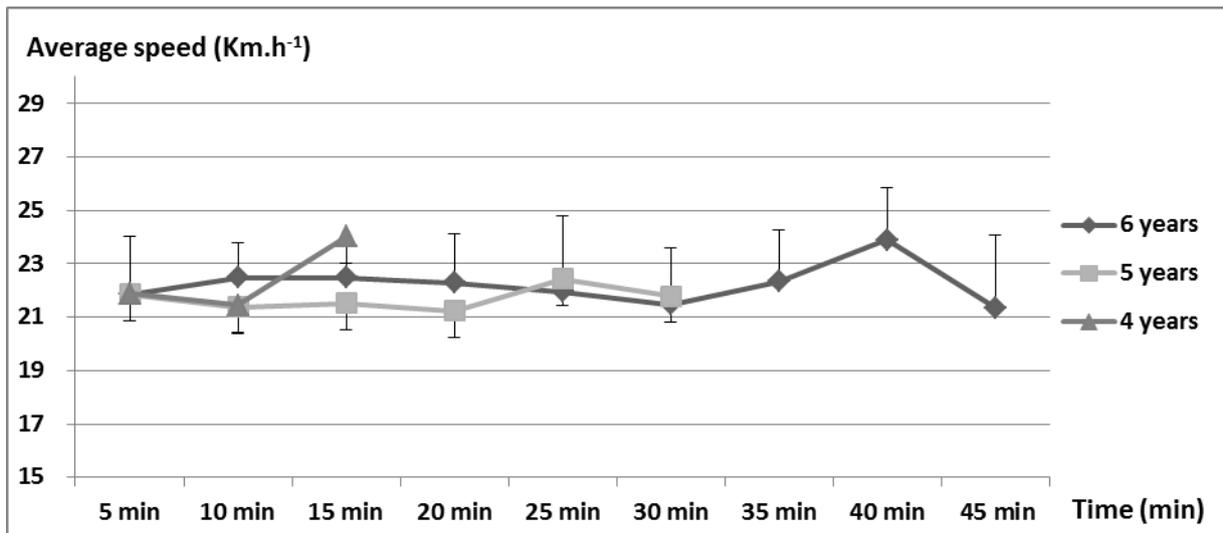


Figure 3. The average cantering speed during the exercise test, as a function of age group. Age did not have a significant effect on speed ($p > 0.05$).

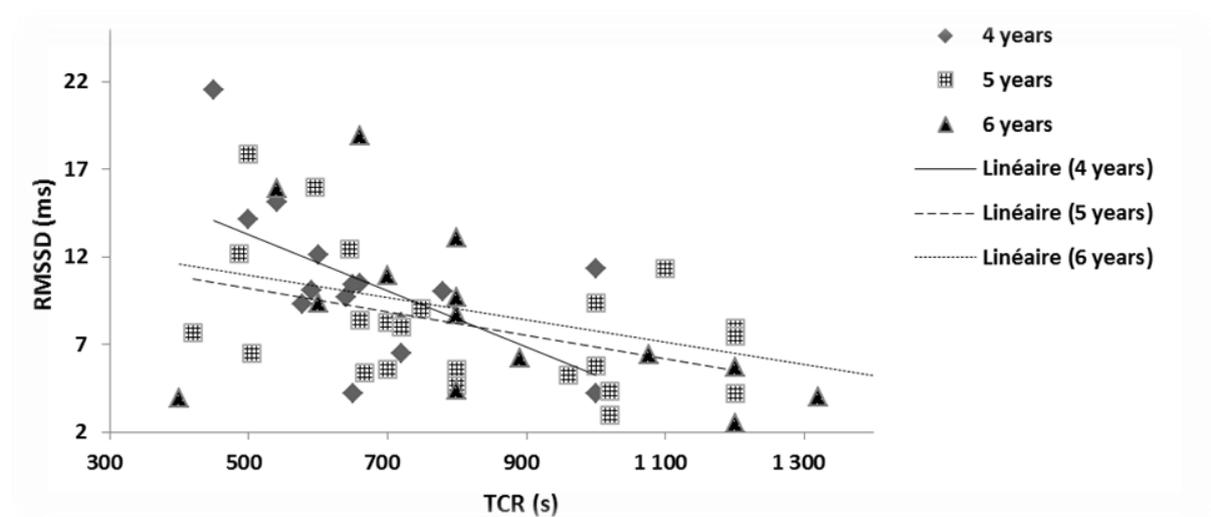


Figure 4. Correlations between the mean RR, standard deviation, RMSSD and CRT. 4 years: $y = -0.016x + 21.277$, ($R = -0.59$; $p = 0.3441$; $p < 0.05$); 5 years: $y = -0.0067x + 13.546$, ($R = -0.44$; $p < 0.05$); 6 years: $y = -0.0063x + 14.106$ ($R = -0.52$; $p < 0.05$); Total $R = -0.5$; $p < 0.001$). Horses with a higher RMSSD recovered faster.

Tables

Table 1. Distribution of the participating horses, by age and test site.

n t o t a l	Test site			
	A (2012-	C2 (2014)	L (2012-	C1 (2012-
4 years(n=23)	8	1	7	7
5 years (n=34)	7	5	12	10
6 years (n=20)	5	2	6	7
Average ambient temperature and Track surface	27°C / 42% Hard field	26°C / 60% Hard field	18°C / 73% Soft sand	20°C / 55% Soft sand

Table 2. HRV components at rest, as a function of age and test site.

	Age (years)			Test site			
	4	5	6	A	C2	L	C1
N = 71	4	5	6	A	C2	L	C1
HR	45.3 ± 7.4	44.1 ± 5.2	43.8 ±	*46.9 ±	41.3± 6.6	46.3 ±	40.7 ±
RMSSD (ms)	*54.4±14.5	44.9 ± 15.5	49.1 ±	49.5 ±	*59.0±	42.8±	50.1±
SD2 (ms)	274.0 ± 88.0	222.9±104.0	277.0 ±	260.8±	290.9 ±	221.3 ±	211.2 ±
LF (ms ²)	499.2 ±117.1	436.1 ±	471.5 ±	495.9 ±	472.1 ±	447.2 ±	426.3 ±
HF (ms ²)	402.2 ±	361.1 ±	392.1 ±	380.6 ±	371.4 ±	367.4 ±	393.3 ±
LF/HF	1.3 ± 0.3	1.3 ± 0.3	1.2 ± 0.3	*1.4 ±	1.3 ± 0.2	1.3 ± 0.2	1.1 ± 0.2
LFnu (%)	56.0± 5.6	55.1 ± 5.5	54.7 ±	*57.3 ±	56.1± 3.2	55.4 ±	52.1± 4.9
HFnu (%)	44.0± 5.6	44.9 ± 5.5	45.3 ±	42.7 ± 6.1	43.9± 3.2	44.6± 4.8	*47.9 ±

Data are expressed as the mean ± SD.* indicates a significant effect of age or test site (p<0.05); the mean values followed by different letters on the same line (a, b) differ significantly (p<0.05). The highest values are indicated in **bold type**.

Table 3. HRV variables during T (15 min) according to age and test site.

	Age (years old)			Test site			
	4	5	6	A	C2	L	C1
N = 54							
Average speed	22.2 ± 1.0	21.8 ±	22.4 ± 0.8	*23.1	21.1 ±	21.2 ±	22.4 ± 0.9
HR (beats.mn ⁻¹)	*148.9 ±	142.9 ±	139.2±12.7	142.2 ±	140.0±	141.2 ±	146.9 ± 1
RMSSD (ms)	*4.9±2.8^a	3.5 ± 1.6	3.0 ± 1.4 ^b	*6.4 ±	3.2 ±	2.7 ±	4.0 ± 1.6 ^b
SD2 (ms)	28.8 ± 18.7	27.16±	35.4	38.3 ±	34.2 ±	23.7	34.8 ±
LF (ms ²)	11.2 ± 3.9	11.2 ±	8.7 ± 2.36	12.6	11.2 ±	6.9 ±	13.7 ± 5.8
HF (ms ²)	11.2 ± 8.3	11.4 ±	8.4 ± 4.5	9.3 ± 6.5	8.1 ±	8.7 ±	13.8 ± 6.6
LF/HF	1.4 ± 0.7	1.1 ± 0.5	1.3 ± 0.7	1.6 ± 0.7	1.6 ±	1.1 ±	1.2 ± 0.6
LFnu (%)	54.8 ±14.6	50.4	52.6 ±13.6	60.1	60.3 ±	48.4 ±	51.0±14.4
HFnu(%)	45.2 ± 14.6	49.6 ±	47.4 ± 13.6	39.9	39.7 ±	51.6 ±	49.0±

Data are expressed as the mean ± SD. * indicates a significant effect of age or test site (p<0.05); the mean values followed by different letters on the same line (a, b) differ significantly (p<0.05). The highest values are indicated in **bold type**.

Table 4. HRV variables during 2T (2x15 min), as a function of age and test site.

	Age (years)		Test site		
	5	6	C2	L	C1
n=38					
Average speed	22.1± 1.8	22.2 ± 1.6	21.1± 0.6 ^b	20.7 ± 1.0 ^b	*23.1± 1.7^a
HR (beats.mn ⁻¹)	*144.0 ±	139.6 ± 13.0	137.5 ± 6.0	138.1 ±	*148.5 ±
RMSSD (ms)	3.1 ± 1.5	3.6 ± 2.2	4.7 ± 3.5	2.5 ± 1.0	3.7 ±1.7
SD2 (ms)	21.4± 10.1	19.8±6.1	20.7 ± 4.4 ^c	15.0 ± 3.7 ^c	24.8 ± 8.7 ^b
LF (ms ²)	9.6 ± 4.6	10.0 ±5.2	*13.8 ±	7.7 ± 2.3 ^b	10.9 ± 5.3 ^b
HF (ms ²)	10.4 ± 6.6	8.4 ± 4.6	6.3 ± 2.1	8.1± 4.3	13.5 ± 7.5
LF/HF	1.2 ± 0.7	1.4 ± 0.8	2.1 ± 0.7	1.2 ± 0.7	1.1 ± 0.6
LFnu(%)	49.8 ± 16.3	54.7 ± 14.2	66.8 ± 8.3	50.8 ± 15.3	46.2 ± 15.0
HFnu(%)	50.2 ± 16.3	45.3 ± 14.2	33.2 ± 8.3	49.2 ± 15.3	53.8 ± 15.0

Data are expressed as the mean ± SD. * indicates a significant effect of age or test site (p<0.05); the mean values followed by different letters on the same line (a, b) differ significantly (p<0.05). The highest values are indicated in **bold type**.

Table 5. HRV variables during cardiac recovery, as a function of the test site.

n=61	Test site			
	A	C2	L	C1
RHR (beats.mn ⁻¹)	91.5 ± 15.1	85.2 ± 11.0	99.7 ± 15.0	100.3 ± 13.6
CRT (s)	624.6 ± 214.0 ^b	631.5 ± 90.3 ^b	*904.0 ± 237.0^a	815.5 ± 354.0 ^a
RMSSD (ms)	13.1 ± 4.9 ^b	*16.1 ± 13.5^a	7.9 ± 4.1 ^c	7.5 ± 3.6 ^c
SD2 (ms)	196.8 ± 82.6	163.1 ± 102.2	173.0 ± 79.0	140.7 ± 59.1
LF (ms ²)	*258.9 ± 145.5^a	265.0 ± 65.7 ^b	177.3 ± 61.7 ^b	216.0 ± 76.9 ^b
HF (ms ²)	135.2 ± 83.2	152.3 ± 40.2	108.9 ± 60.9	127.0 ± 38.8
LF/HF	2.2 ± 1.0	1.8 ± 0.4	1.9 ± 0.7	1.7 ± 0.4
LFnu (%)	66.3 ± 10.5	63.4 ± 5.4	63.3 ± 8.4	62.4 ± 5.2
HFnu (%)	33.7 ± 10.5	36.6 ± 5.4	36.7 ± 8.4	37.6 ± 5.2

Data are expressed as the mean ± SD. * indicates a significant effect of test site (p<0.05); the mean values followed by different letters on the same line (a, b, c) differ significantly (p<0.05). The highest values are indicated in **bold type**.

Table 6. Effect of exercise duration on HRV variables.

N = 38	5 years old		6 years old		
	T	2T	T	2T	3T
Average speed (km.h ⁻¹)	21.8 ± 1.6	22.1 ± 1.8	22.4 ± 0.8	22.2 ± 1.6	22.2 ± 1.9
HR (beats.mn ⁻¹)	142.9 ±	143.9 ±	139.2 ± 12.0	139.6 ±	144.9 ±
RMSSD (ms)	3.5 ± 1.6	3.1 ± 1.5	3.0 ± 1.4 ^b	3.6 ± 2.2 ^b	*2.8 ± 1.0
SD2 (ms)	27.1 ± 18.6	21.4 ± 10.1	*35.4 ± 17.1	19.8 ± 6.1 ^b	29.7 ± 10.1
LF (ms ²)	11.2 ± 25.0	9.6 ± 4.6	8.7 ± 2.3	10.0 ± 5.2	9.9 ± 4.6
HF (ms ²)	11.4 ± 6.1	10.4 ± 6.6	8.4 ± 4.5	8.4 ± 4.6	8.1 ± 4.2
LF/HF	1.2 ± 0.5	1.2 ± 0.7	1.3 ± 0.7	1.4 ± 0.8	1.4 ± 0.6
LFnu (%)	50.4 ± 15.2	49.8 ± 16.3	52.6 ± 13.6	54.7 ± 14.2	55.7 ± 11.3
HFnu (%)	49.6 ± 15.2	50.2 ± 16.3	47.4 ± 13.6	45.3 ± 14.2	44.3 ± 11.3

Data are expressed as the mean ± SD. * indicates a significant effect of age or test site (p<0.05); the mean values followed by different letters on the same line (a, b, c) differ significantly (p<0.05). The highest values are indicated in **bold type**.

4.3. Conclusion de l'article et perspectives

Dans cette étude, nous avons démontré que les chevaux qui récupèrent vite après un test d'effort standardisé ont des valeurs de RMSSD (indice qui reflète l'activité parasympathique du cœur) élevées. Cet indice (RMSSD) de la VFC est facile à calculer et reflète la puissance du système parasympathique qui est responsable de récupération rapide après un effort. Les tests d'effort standardisés sur terrain présentés dans cette étude permettent de comparer les chevaux entre eux et de choisir le meilleur reproducteur en se basant sur le temps de récupération cardiaque (TRC) et les indices de la HRV (RMSSD).

En se basant sur les différentes études (études 1-4) présentées dans cette thèse, on peut déduire que le TRC est un indice clé de la performance du cheval d'endurance.

En plus, le TRC occupe une grande importance dans les courses d'endurance, puisque les chevaux mettant plus de 20 min à descendre à 64 bpm sont éliminés de la course (FEI. 2014). Cependant, certaines équipes pourraient avoir recours à des substances pharmacologiques interdites, considérées comme dopantes, pour abaisser artificiellement la fréquence cardiaque et faciliter ainsi le passage au contrôle vétérinaire. L'utilisation des substances bradycardisantes après un effort de longue durée pourrait avoir des conséquences graves sur la santé des chevaux.

Dans le but de protection et de bien-être du cheval, nous avons mené la cinquième étude afin d'identifier les molécules susceptibles d'être utilisées sur les courses pour réduire artificiellement le TRC. Dans cette dernière étude nous proposons une nouvelle méthode non-invasive de détection des chevaux dopés à partir des modifications caractéristiques de la VFC.

5.Effet des bêta-bloquants et des Alpha-2-agonistes sur la variabilité cardiaque au repos et post effort chez le cheval.

5.1. Résumé

La fréquence cardiaque de récupération (FCR) est un paramètre clé de la réussite des chevaux sur les courses d'endurance. Les chevaux qui présentent des FCR supérieure à 64 bpm après 20 mn de récupération au contrôle vétérinaire (Vet-gate) sont éliminés. Certains concurrents auraient recours à des substances pharmacologiques interdites pour abaisser artificiellement la FCR et faciliter ainsi le passage au contrôle vétérinaire.

L'objectif de cette étude est d'étudier les effets d'un alpha-2-agoniste (A2A) et de deux bêta-bloquants (BB) sur la variabilité de la fréquence cardiaque (VFC) chez le cheval. Cela permettrait de proposer une méthode non invasive de détection de l'administration des substances bradicardisantes (BB et A2A) utilisables dans la lutte contre le dopage à partir de l'analyse de la VFC.

Les molécules testées sont administrées en aveugle chez 3 chevaux d'expérimentation selon un dispositif en carré latin au repos et après un exercice standardisé à la longe. Les analyses statistiques ont montré une amélioration des variables de récupération (FCR et TRC) après l'administration de 0,85 mg de détomidine (A2A) par voie intraveineuse. D'autre part, des pics caractéristiques de la puissance spectrale en basses et hautes fréquences (LF et HF) ont été observés après l'administration de substances bradicardisantes (BB et A2A).

Les A2A et les BB sont des substances susceptibles d'être utilisés comme dopants sur les courses d'endurance. Ces substances pourraient être mieux ciblées par les organismes responsables de la lutte contre le dopage. Ainsi, cette étude préliminaire montre sur une base scientifique la faisabilité de détection des substances bradicardisantes à partir des modifications caractéristiques de la VFC.

Mots clés : Endurance, Dopage, récupération cardiaque, variabilité cardiaque

5.2. Publication

Effet des Bêta-bloquants et des Alpha-2-agonistes sur la variabilité cardiaque au repos et post effort chez le cheval

Mohamed Younes¹, François Cottin^{4,5}, Sylvie Lavoisier³, Eric Barrey^{1,2}, Céline Robert^{2,3}

¹UBIAE, Université d'Evry Val d'Essonne, France

²INRA, GABI, UMR1313, Jouy-en-Josas, France

³Université Paris-Est, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, France

⁴EA4532 CIAMS, Université Paris Sud, France

⁵ Département STAPS, Université d'Evry Val d'Essonne, France

Statut : en préparation pour soumettre à International Journal of Sports Medicine

Introduction :

L'endurance équestre est une discipline récente qui a été reconnue par la Fédération Equestre Internationale (FEI) en 1982. C'est le sport équestre qui se développe le plus avec 879 épreuves internationales en 2010 contre seulement 63 en 1999. Les épreuves de niveau national et international, de 80 à 160 km en une journée, se courent « à vitesse libre ». Les règlements fédéral (FFE) et international (FEI) imposent des contrôles vétérinaires tous les 30 à 40 km tout au long du parcours. Ces contrôles s'effectuent sur le principe du « vet-gate » : les chevaux ne peuvent être présentés au contrôle que lorsque leur fréquence cardiaque (FC) est inférieure ou égale à 64 battements par minute (bpm) ; le temps de récupération entre l'arrivée de l'étape et le passage au contrôle est compté comme du temps de course. La durée de récupération maximale autorisée est limitée à 20 ou 30 minutes selon les épreuves. Certains concurrents pourraient avoir recours à des substances pharmacologiques interdites, considérées comme dopantes, pour abaisser artificiellement la fréquence cardiaque et faciliter ainsi le passage au contrôle vétérinaire.

Les bêtabloquants (BB) et les alpha-2-agonistes (A2A) sont les substances bradycardisantes les plus susceptibles d'être utilisées aux contrôles vétérinaires pour accélérer la récupération cardiaque.

Le propranolol est un BB non cardio-sélectif qui bloque les récepteurs β_1 -cardiaques et les récepteurs β_2 -extracardiaques. Chez l'homme, l'administration d'une dose de 0,2 mg/kg de chlorhydrate de propranolol par voie intraveineuse (IV) à l'effort diminue les fréquences cardiaque et respiratoire respectivement de 17% et 9,6%. (*Brown et al. 1976*). L'effet bradycardisant du propranolol au repos et à l'effort est également bien établi chez le cheval (*Hada et al. 2006 ; Ohmura et al. 2001*). Les BB pourraient ainsi être utilisés de manière illicite dans les sports équestres pour améliorer les performances (*Leung et al. 2001*), d'autant plus que la détection des BB à faible dose est assez difficile en raison des faibles concentrations urinaires et plasmatiques (*Garcia et al. 2011*).

La détomidine est un A2A utilisé en anesthésiologie vétérinaire qui agit sur les récepteurs adrénergiques α_2 localisés dans le système nerveux central et le cœur. Elle diminue la libération de noradrénaline et provoque une inhibition du système nerveux sympathique qui provoque une bradycardie. Chez le cheval, l'administration de 0,02 mg/kg de détomidine par voie IV provoque une bradycardie de l'ordre de 10 bpm, alors qu'une 0,03mg/kg conduit à une diminution plus remarquable (17 bpm) (*Mama et al. 2009*).

Au contraire des courses hippiques où les prélèvements pour contrôle de médication sont systématiques sur toutes les épreuves, dans les sports équestres moins de 1 % des chevaux sont contrôlés. Entre les années 2010 et 2012, 41 chevaux d'endurance ont été trouvés positifs à des substances interdites (*FEI 2015*). En comparaison, en saut d'obstacle, discipline qui comporte 31 064 chevaux enregistrés, soit trois fois qu'endurance, seulement 19 infractions ont été enregistrées sur la même période. Les conséquences du dopage sur le bien-être et la santé du cheval peuvent être très graves : sans qu'une relation directe de cause à effet ait été démontrée, un nombre croissant de fractures et de morts en course d'endurance a été observé ces dernières années (*Mischeff et al. 2010*).

Notre étude suggère que les BB et les A2A diminuent la FC et modifient la variabilité cardiaque (VFC). L'objectif de cette étude est d'étudier les effets d'un A2A et de deux BB sur la VFC chez le cheval. Les modifications caractéristiques au niveau de la VFC permettraient de proposer une méthode non invasive de détection des substances bradycardisantes à partir d'un simple enregistrement cardiaque utilisable dans la lutte contre le dopage.

Matériel et méthodes

Cette étude expérimentale a été réalisée chez trois chevaux d'instruction ayant une activité quotidienne d'une à trois heures de travail de faible intensité, âgés en moyenne de 13 ± 2 ans et pesant 507 ± 58 kg. Cette étude a reçu un avis favorable du Comité d'éthique pour l'expérimentation animale (ComEth Anses/ENVA/UPEC/France). Pendant toutes les étapes de l'expérimentation, les molécules testées ont été administrées en aveugle sous forme de carré latin de façon que chaque cheval reçoive une seule fois le même traitement et soit son propre témoin.

Molécules, doses et voie d'administration

Une étude préliminaire a été réalisée afin de choisir la molécule testée, la voie et la posologie ayant un effet sur l'activité cardiaque sans effet secondaire significatif. Trois molécules (atenolol, propranolol et détomidine) et un placebo ont d'abord été testés à différentes doses et voies d'administration : nasale (N), sublinguale (PO) et intraveineuse (IV) chez trois autres chevaux.

Les voies d'administration N et PO ont été écartées ultérieurement dans cette étude pour deux raisons :

1. Les chevaux supportaient mal l'administration des molécules par voie N rendant difficile l'administration d'une dose constante et reproductible de produit.

2. L'administration par voie orale était associée à une absorption lente du produit rendant ses effets dilués dans le temps et plus difficiles à étudier.

Au final, deux molécules ont été retenues pour administration par voie Intraveineuse (IV) pendant l'expérimentation :

- propranolol en préparation extemporanée à 50 mg dilués dans 5 ml d'eau pour préparation injectable ; détomidine et détomidine (Détogésic®) 0,1 ml soit 0,84 mg dilués dans 5 ml de sérum physiologique ; Ces oscillations (LF et HF) sont quantifiables par la mesure de la puissance spectrale (ou énergie spectrale) qui est l'intégration de la densité de puissance spectrale (PSD) sur les bandes de fréquences LF et HF. On note la puissance spectrale en LF, LF (ms²) et la puissance en HF, HF (ms²) (Figure 19).

- du sérum physiologique (5 ml) a été utilisé comme témoin négatif).

Protocole expérimental

Protocole 1 : au repos

L'objectif de ce premier protocole est d'évaluer les effets d'un BB et d'un A2A sur l'activité cardiaque (FC et VFC) au repos et d'établir la durée de l'effet des molécules sur l'activité cardiaque. Les expérimentations ont commencé 2h après la distribution du repas du matin par un examen clinique complet de chaque cheval. Les deux molécules (0,85 mg de détomidine et 50 mg de propranolol) et un placebo (5 ml de NaCl) sont administrées par voie IV dans un ordre aléatoire à minimum 72 h d'intervalle et les chevaux sont laissés libres dans leur box. Une surveillance continue a été effectuée pendant la première heure. Des examens cliniques incluant notamment la mesure de la fréquence respiratoire, l'examen des muqueuses et l'auscultation digestive sont effectués toutes les 15 minutes la première heure, puis toutes les 30 minutes les 2h suivantes.

Protocole 2 : à l'arrêt de l'effort

L'objectif de ce protocole est d'évaluer les effets des molécules testées au protocole 1 sur la récupération cardiaque (FC et VFC) après un effort standardisé.

Pendant toute l'expérimentation, nous avons gardé le même couple cavalier-cheval.

Les chevaux ont commencé par 5 min au pas plus 5 min au trot. Puis ils ont effectué un effort modéré (15 minutes de travail au galop) avec une FC moyenne entre 120 et 140 bat/min. A l'arrêt de l'exercice les chevaux ont reçu successivement chacun des 2 produits (Propranolol et Détomidine) et un placebo par voie (IV) dans un ordre

aléatoire à minimum 72 h d'intervalle entre les différentes manips. La récupération cardiaque a été suivie jusqu'à 2h après injection.

Le temps de récupération cardiaque (TRC) est considéré comme le temps nécessaire pour que la FC redescende à 64 bpm après l'arrêt de l'effort.

Enregistrements cardiaque

Pour évaluer les effets de ces molécules sur l'activité cardiaque, les chevaux sont équipés de cardiofréquencemètres Polar® qui enregistre en continu les séries successives de périodes cardiaques (RR) pendant toute l'expérimentation. La vitesse des chevaux est mesurée par des GPS Minimax ® portés par les cavaliers. Les artéfacts sous forme de valeurs aberrantes sont écartés des enregistrements cardiaques à l'aide d'une macro de correction point par point. Les 5 premières minutes d'enregistrement sont aussi écartées au repos, c'est le temps de récupération du stress provoqué par la manipulation du cheval.

Au repos (Protocole 1), des intervalles de 15 min d'enregistrement cardiaque avant et après injection ont été analysés séparément dans le domaine temporel (Graphe de Poincaré) et en temps-fréquence (Pseudo Wigner-Ville Lissée). Cette méthode permettra d'obtenir les composantes spectrales instantanées en basse (LF) et haute fréquence (HF) de la variabilité à court terme de la FC instantanée (*Cottin et al. 2006*).

Après l'exercice (Protocole 2), seulement les enregistrements à l'arrêt de l'exercice ont été analysés pour identifier les effets des molécules injectées sur la récupération cardiaque. Les différents indices de la VFC calculés pendant le protocole 1 et 2 sont présentés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Indices temporels (T) et fréquentiels (F) de la variabilité cardiaque calculés à partir des intervalles RR au repos et pendant la récupération (Cottin et al. 2005).

Domaine	Indices	Unité	Définition et signification physiologique
T	RMSSD	ms	Racine carrée de la moyenne des carrés des différences des intervalles RR successifs ; reflète la variabilité à court terme (activité parasympathique).
T	SD2	ms	écart-type de diamètre long de nuage de point (RR) de Graphe Poincaré Plot ; indicateur de la variabilité à long terme (activité sympathique).
F	LF	ms ²	Puissance spectrale des basses fréquences (au repos : 0,04 - 0,12 Hz ; à l'effort : 0,04 - 0,15 Hz). Reflète l'activité sympathique et parasympathique du cœur.
F	HF	ms ²	Puissance spectrale des hautes fréquences (au repos : 0,12 Hz - 0,5 Hz (fmax) ; à l'effort : 0,15 – 2 Hz (fmax). Reflète l'activité parasympathique du cœur et la fréquence respiratoire au galop.
F	LF n.u	%	$LF \text{ n.u} = (LF/(LF+HF)) \times 100$. Reflète l'activité sympathique.
F	HF n.u	%	$HF \text{ n.u} = (HF/(LF+HF)) \times 100$. Reflète l'activité parasympathique.

Analyse statistique

Une analyse de variance à un facteur avec mesures répétées du logiciel Sigma Stat 2007 a été utilisée pour déterminer l'effet des produits injectés sur les indices cardiaques au repos et pendant la récupération cardiaque. Ainsi, un test de multiple comparaison des moyennes (*Fischer LSD, Sigma Stat 2007*) a permis de comparer les différents produits administrés. Toutes les variables mesurés dans cette étude présentent une distribution normale. Le seuil de signification a été fixé à $P < 0,05$.

Résultats

Tous les chevaux ont fini l'expérimentation sans complication et sans problèmes notés pendant et après l'injection des différentes substances.

Protocole 1 : au repos

Après 2 min d'injection des substances, la FC de repos a tendance à baisser légèrement sans aucune différence significative entre les produits. (Tableau 1). De

même, aucun effet significatif des produits injectés n'a été observé sur les indices cardiaques avant et après l'administration (Tableau 1). Cependant, au contraire du Propranolol et du placebo, les valeurs moyennes de RMSSD pour la détomidine ont tendance à augmenter après 2 min d'injection. D'autre part, les valeurs moyennes de HF n.u ont tendance à augmenter après l'injection de la détomidine et du propranolol (Tableau 1). Deux pics (LF et HF) d'une puissance spectrale importante sont visibles après l'administration de la détomidine avec une baisse de la FC de repos de l'ordre de 7 bpm (Figure 1,A). Cette baisse de la FC dure environ 10 min puis la FC revient à ces valeurs de base (Figure 1, A). D'une manière générale, l'énergie spectrale des LF (ms^2) et des HF (ms^2) a tendance d'être plus élevée après l'administration de la détomidine et du propranolol en comparaison avec le placebo (Figure 1). Cependant, cette différence n'est pas significative ($p > 0.05$) au repos (Tableau 1).

Tableau 1 : Variation de la FC et des indices de VFC après injection de différents produits au repos.

Produit	Périodes	FC (bpm)	SD2 (ms)	RMSSD (ms)	LF n.u %	HF n.u %
Detomidine (0,85 mg)	A	37,6 ± 4,9	189,1 ± 65,6	66 ± 32	70,2 ± 18	29,8 ± 18
	P	36,1 ± 3,3	160,3 ± 79	72,3 ± 22,7	62,7 ± 13,9	37,3 ± 13,9
Propranolol (50 mg)	A	41,5 ± 1,3	137,6 ± 42	78,4 ± 38,5	75,6 ± 3,4	24,4 ± 3,4
	P	38,6 ± 1,9	146,8 ± 41	69,2 ± 30,8	65,6 ± 10,2	34,4 ± 10,2
Placebo (NaCl : 5 ml)	A	43,4 ± 5,1	204,2 ± 47,7	81,6 ± 32,2	65,9 ± 13,5	34,1 ± 13,5
	P	37,5 ± 3,9	179,2 ± 85	79,2 ± 36,6	66,7 ± 15,3	33,3 ± 15,3

A : Avant administration des substances ; P : 2 min après l'administration des substances. Aucune différence significative ($p > 0.05$).

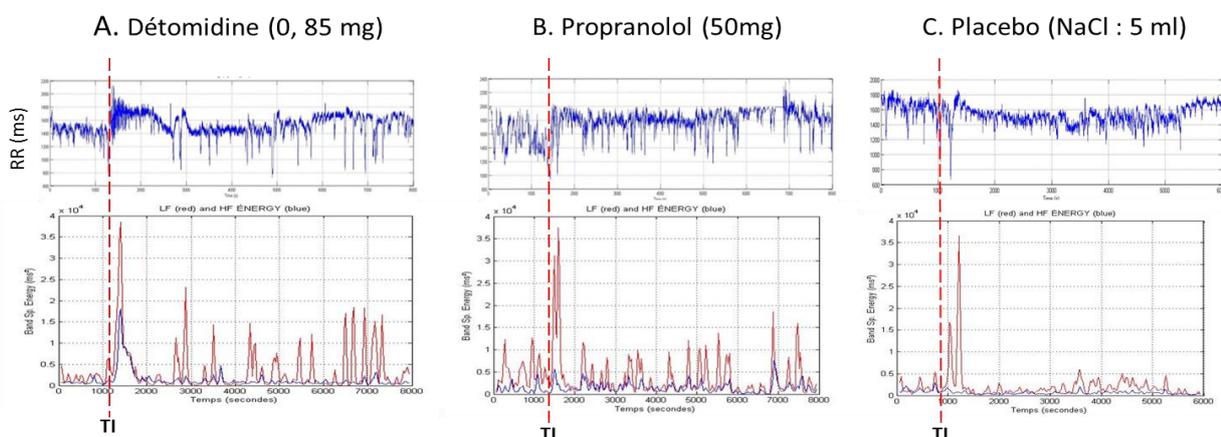


Figure 1 : Effet de l'administration de la détomidine, du propranolol et d'un placebo sur l'énergie spectrale des LF (en rouge) et des HF (en bleu) au repos. TI : temps d'injection par voie intraveineuse.

Protocole 2 : à l'arrêt de l'effort

Tous les chevaux ont fini correctement le protocole d'effort (15 min de galop) sans problèmes notés. La vitesse moyenne et la FC moyenne des chevaux étaient stables et presque similaires pendant le protocole d'effort (Tableau 1, lignes 1 et 2). L'administration de la détomidine à l'arrêt de l'exercice provoque une baisse significative de la FC de récupération (FCR) après 2 min par rapport le propranolol et le placebo ($p < 0,05$). D'autre part, le temps de récupération cardiaque (TRC) a tendance d'être plus court après l'administration de la détomidine (Tableau 2). Au niveau des indices de la VFC, les valeurs moyennes de la RMSSD sont plus élevées après l'injection de la détomidine et du propranolol qu'avec le placebo ($p < 0,05$) (Tableau 2). L'énergie spectrales en LF (ms^2) a tendance d'être plus élevée après administration de la détomidine par rapport le propranolol et le placebo (Tableau 2). D'autre part, l'énergie spectrale des HF (ms^2) a tendance d'être plus élevée après l'administration de détomidine et de propranolol qu'avec le placebo.

Tableau 2 : Variation des valeurs moyennes des indices cardiaques en fonction des produits administrés pendant la récupération cardiaque.

variables mesurées	Produits administrés		
	Detomidine (0, 85 mg)	Placebo (NaCl : 5 ml)	Propranolol (50 mg)
Vitesse effort (Km/h)	9,74 ± 0,84	10,93 ± 1,15	9,14 ± 0,06
FC effort (bpm)	131 ± 4,35	129,67 ± 3,21	129,07 ± 3,69
FCR au moment de l'injection (bpm)	77,00 ± 8	76 ± 6,56	78,33 ± 1,53
FCR 2 min après injection (bpm)	60,33 ± 12,22* a	82,33 ± 4 b	79,33 ± 3,21 b
FCR 5 min après injection (bpm)	66,00 ± 2,64	71,67 ± 6,5	68,33 ± 2,3
TRC (S)	323,33 ± 25,17	362,67 ± 34	376,67 ± 80,21
SD2 (ms)	143,76 ± 52,95	127,13 ± 49,16	74,50 ± 54,87
RMSSD (ms)	22,27 ± 6,53* a	16,53 ± 2,37 b	22,77 ± 3,52* a
LF (ms^2)	106,33 ± 20,3	82,26 ± 39,3	73,83 ± 19,97
HF (ms^2)	75,66 ± 17,89	28,33 ± 4,1	65,33 ± 28,37
LFnu %	58,58 ± 1,51	72 ± 9,7	53,76 ± 17,4
HFnu %	41,41 ± 1,51	28 ± 9,7	46,23 ± 17,4

*effet significatif du produit administré ; les moyennes suivies par deux lettres différentes (a et b) sont significativement différentes à $P < 0,05$. FC : fréquence cardiaque ; TRC : temps de récupération cardiaque (temps nécessaire pour que la FC redescende à 64 bpm après l'arrêt de l'effort) ; FCR : fréquence cardiaque de récupération après injection des molécules.

Discussion

Protocole et ces limites :

Cette étude préliminaire a été réalisée seulement sur 3 chevaux avec 3 répétitions, ce qui peut être la principale limite de cette expérimentation surtout au niveau statistique. Cependant chaque cheval a reçu les 3 substances ce qui présente au total 9 observations (limite statistique). En plus les chevaux sont d'âge différent ce qui peut influencer les résultats de cette étude.

Après l'effort effectué (protocole 2), le TRC varie de 5 à 6 min selon la substance administré. Ces valeurs reflètent que l'effort effectué n'est pas suffisant pour provoquer des tachycardies qui persistent dans le temps comme le cas sur les épreuves d'endurance. Cependant cette expérimentation est un bon modèle pour réaliser ultérieurement d'autres études en situation de course.

Dose et voie d'administration

Le choix de la dose administrée (0,85 mg de détomidine et 50 mg de propranolol) est basé sur l'objectif de réduire le temps de récupération cardiaque à l'arrêt de l'exercice sans avoir des effets indésirables qui peuvent être détectés pendant les contrôles vétérinaire (Vet-gate).

L'étude de (*Dimaio Knych et al. 2011*) a montré une diminution de la FC de l'ordre de 10 bpm après 40 min d'administration d'une dose de 0,04 mg/kg de gel de détomidine sous la langue chez 12 chevaux. Cependant la voie sublinguale ne peut pas être utilisée dans les épreuves d'endurance vu le temps de latence de l'activité (40 min) qui dépasse largement le temps de récupération autorisé (20 min) au Vet-gate. Une autre étude de *Mama et al. en 2009* a montré qu'après 10 min d'administration de 0,03mg/kg de detomidine par voie IV, une bradycardie de l'ordre de 17 bpm a été observée chez 8 chevaux. Cependant cette dose élevée provoque une sédation remarquable qui peut être détectée facilement pendant les contrôles vétérinaires. On se basant sur les résultats de ces études, des essais préliminaires ont été effectuées dans le cadre de notre étude pour déterminer la dose et la voie d'administration des molécules. Au final, des demi-doses thérapeutiques (0,85 mg de détomidine et 50 mg de propranolol) administrées par voie IV ont été choisie pour la réalisation de cette expérimentation. Le choix de la dose de 50 mg de propranolol est basé sur les mêmes critères utilisés pour déterminer la dose de détomidine. En effet, l'administration d'une dose de 0,2 mg/kg de chlorhydrate de propranolol chez l'homme par voie intraveineuse (IV) à l'effort diminue la fréquence cardiaque de 17% (*Brown et al. 1976*). Pour un cheval qui pèse 500 kg, la demi-dose thérapeutique de propranolol administré par voie IV correspond à 50 mg.

Discussion des résultats

Au repos, l'injection de 0,85 mg de détomidine par voie IV provoque une augmentation des valeurs moyennes de RMSSD, de l'énergie spectrale en LF et HF avec une légère baisse de la FC de repos. L'augmentation de ces indices de la VFC peut être expliquée par une augmentation de la modulation vagale après l'administration. En effet, la FC de repos chez le cheval est plus basse (24-40 bpm) que chez l'homme (45-70) (*VonBorell et al. 2007*). Ceci rend l'effet des substances bradycardisantes moins important sur la baisse de la FC de repos des chevaux par rapport l'homme. Au repos, la FC est régulée par le système parasympathique (nerf vague) qui impose un rythme cardiaque beaucoup moins élevé qu'à l'effort ou pendant la récupération. Après l'effort, la FC de récupération est affectée par le retrait du système sympathique et la réactivation parasympathique pour revenir à des valeurs de repos (*Hada et al. 2006*). L'administration de la détomidine à l'arrêt de l'exercice provoque une baisse significative de la FCR après 2 min et du TRC avec une augmentation de la variabilité cardiaque (RMSSD). L'augmentation remarquable des valeurs moyennes du RMSSD après l'administration de la détomidine reflète une amélioration de la modulation vagale. Ceci est bien visible aussi au niveau de l'énergie spectrale des LF (m^2) et des HF (ms^2) qui reflète encore une fois l'augmentation de la modulation vagale avec la détomidine. D'autre part, la FCR a tendance de baisser légèrement après l'injection du 50 mg de propranolol avec des valeurs de RMSSD et d'énergie spectrale en HF (ms^2) plus élevées par rapport le placebo. En effet, l'injection de propranolol bloque les récepteurs β -adrénergique ce qui se traduit par une augmentation de la puissance spectrale dans les deux bandes de fréquence LF et HF (*Kuwahara et al. 1996*). Or dans notre étude, l'injection du propranolol provoque seulement une augmentation de l'énergie spectrale en HF (ms^2) par rapport le placebo. Ceci peut être expliqué par l'effet dose du propranolol qui ne semble pas être efficace pour provoquer un blocage complet des récepteurs β -adrénergique du cœur. Cependant, la dose de la détomidine est nettement plus efficace pour réduire la récupération cardiaque par rapport le propranolol est le placebo. Il faut noter aussi que l'effet des molécules bradycardisantes varie aussi en fonction du cheval testé et de la durée de l'effort effectué.

Conclusion

L'administration de 0,85 mg de détomidine par voie IV à l'arrêt de l'exercice accélère la récupération cardiaque, baisse la FCR et augmente la variabilité cardiaque (RMSSD)

après 2 min d'injection. Cette molécule est susceptible d'être utilisée comme dopant par des concurrents sur les épreuves d'endurance afin de réduire artificiellement la FCR et passer plus rapidement les contrôles vétérinaires. Les substances bradycardisantes en général et le détomidine en particulier doivent être mieux ciblées par les organismes de lutte contre le dopage pour préserver la santé du cheval sur les épreuves d'endurance. Les résultats de cette étude démontrent la faisabilité de détection de dopants bradycardisants et peuvent être considérées comme une base scientifique pour envisager une étude de validation à plus grande échelle afin d'identifier des changements caractéristiques de la VFC.

Perspectives

Notre étude permettrait de valider une méthode non invasive de détection des chevaux dopés par des BB ou des A2A à partir des modifications caractéristiques de la VFC, ces modifications seront programmées sur un logiciel qui permet de les détecter à partir d'un simple enregistrement cardiaque (ECG) et donc de mieux cibler les prélèvements de lutte anti-dopage.

Bibliographie :

- Anti-Doping Rules." *FEI*. Accessed March 27, 2015. <http://www.fei.org/content/anti-doping-rules>.
- Brown, H. V., K. Wasserman, and B. J. Whipp. "Effect of Beta-Adrenergic Blockade during Exercise on Ventilation and Gas Exchange." *Journal of Applied Physiology* 41, no. 6 (December 1976): 886–92.
- Cottin, F., E. Barrey, P. Lopes, and V. Billat. "Effect of Repeated Exercise and Recovery on Heart Rate Variability in Elite Trotting Horses during High Intensity Interval Training." *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 36 (August 2006): 204–9.
- Dimaio Knych, Heather K., and Scott D. Stanley. "Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Detomidine Following Sublingual Administration to Horses." *American Journal of Veterinary Research* 72, no. 10 (October 2011): 1378–85. doi:10.2460/ajvr.72.10.1378.
- Giorgi, Mario, Giulio Soldani, Clementina Manera, PierLuigi Ferrarini, Micaela Sgorbini, and Giuseppe Saccomanni. "Pharmacokinetics of Tramadol and Its Metabolites M1, M2 and M5 in Horses Following Intravenous, Immediate Release (Fasted/Fed) and Sustained Release Single Dose Administration." *Journal of Equine Veterinary Science* 27, no. 11 (November 2007): 481–88. doi:10.1016/j.jevs.2007.10.004.
- Hada, T., H. Ohmura, K. Mukai, D. Eto, T. Takahashi, and A. Hiraga. "Utilisation of the Time Constant Calculated from Heart Rate Recovery after Exercise for Evaluation of Autonomic Activity in Horses." *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 36 (August 2006): 141–45.

- Kuwahara, M., S. Hashimoto, K. Ishii, Y. Yagi, T. Hada, A. Hiraga, M. Kai, et al. "Assessment of Autonomic Nervous Function by Power Spectral Analysis of Heart Rate Variability in the Horse." *Journal of the Autonomic Nervous System* 60, no. 1–2 (August 27, 1996): 43–48.
- Leung G.N., Cheng R.C., Cheung I.F., Ho E.N., Tang F.P., Yiu K.C., Wan T.S. (2001) Analyses of b-blockers in horse urine by capillary electrophoresis-mass spectrometry. *Analytical Sciences*. 17, 181-184.
- Mama, K. R., K. Grimsrud, T. Snell, and S. Stanley. "Plasma Concentrations, Behavioural and Physiological Effects Following Intravenous and Intramuscular Detomidine in Horses." *Equine Veterinary Journal* 41, no. 8 (November 2009): 772–77.
- Misheff MM, Alexander GR, Hirst GR. Management of fractures in endurance horses. *Equine Vet Ed* 2010; 22: 623–630.
- Ohmura, H., A. Hiraga, H. Aida, M. Kuwahara, and H. Tsubone. "Effects of Repeated Atropine Injection on Heart Rate Variability in Thoroughbred Horses." *The Journal of Veterinary Medical Science / the Japanese Society of Veterinary Science* 63, no. 12 (December 2001): 1359–60.
- Von Borell, Eberhard, Jan Langbein, Gérard Després, Sven Hansen, Christine Leterrier, Jeremy Marchant-Forde, Ruth Marchant-Forde, et al. "Heart Rate Variability as a Measure of Autonomic Regulation of Cardiac Activity for Assessing Stress and Welfare in Farm Animals -- a Review." *Physiology & Behavior* 92, no. 3 (October 22, 2007): 293–316. doi:10.1016/j.physbeh.2007.01.007.
- Garcia, P., A.-C. Paris, J. Gil, M.-A. Popot, and Y. Bonnaire. "Analysis of B-Agonists by HPLC/ESI-MS(n) in Horse Doping Control." *Biomedical Chromatography: BMC* 25, no. 1–2 (January 2011): 147–54. doi:10.1002/bmc.1562.

5.3. Conclusion de l'article et perspectives

Comme nous venons de le voir dans les études précédentes, le TRC est un paramètre clé de la performance en course d'endurance. Ce dernier est très influencé par le facteur génétique (46%), mais aussi par d'autres facteurs. Parmi ces facteurs, le dopage par les substances bradycardisantes qui fait l'objet de cette dernière étude. En effet, les substances bradycardisantes (BB et A2A) provoquent une baisse significative de la FCR avec des changements caractéristiques aux niveaux des composantes spectrales de la VFC. L'analyse de la VFC peut être considérée ainsi comme une méthode non-invasive de suspicion du dopage par les substances bradycardisantes.

Cependant, cette étude a été effectuée uniquement sur trois chevaux et après une courte durée d'effort (15 min). Afin de valider cette étude, il faudrait augmenter la population de l'étude et de reprendre les manipulations en situation réelle de course. Ainsi, les résultats de cette étude peuvent être considérés comme une base scientifique pour envisager une étude de validation à plus grande échelle.

6. Discussion générale

6.1. Rappel des objectifs et des résultats

L'objectif de cette thèse est de déterminer des critères cardiaques favorables en course d'endurance équestre à partir de l'analyse des variations de l'activité cardiaque (FC et VFC) au repos, à l'effort et pendant la récupération.

Les principaux résultats de cette thèse sont les suivants :

Etude 1 : **Étude du temps de récupération et des facteurs influençant la récupération en course d'endurance équestre.**

- Les chevaux classés et les éliminés présentent deux profils de course différents : les éliminés courent à des vitesses plus élevées et mettent plus du temps à récupérer par rapport aux chevaux classés.
- Le temps de récupération cardiaque est un indicateur très pertinent du niveau de forme du cheval.

Etude 2 : **Estimation du risque d'élimination en course d'endurance à partir de l'analyse de la vitesse et du temps de récupération cardiaque.**

- Il est possible de prédire le risque d'élimination du cheval au Vet-gate (n) sur la course à partir de sa vitesse sur l'étape précédente (n-1) et de sa récupération cardiaque au Vet-gate précédent (n-1). - un cheval a 70% de risque d'être éliminé si son temps de récupération cardiaque est supérieur à 11 min aux Vet-gates 1 et 2, et plus de 13 min au Vet-gates 3 et 4, respectivement.

Etude 3 : **Estimation de l'héritabilité des facteurs cardiaques en course d'endurance**

- L'héritabilité de la vitesse, de la fréquence cardiaque de récupération (FCR) et du temps de récupération cardiaque (TRC) sont respectivement de 12%, 15% et 46 % chez le cheval d'endurance.
- La vitesse de course et la FCR sont plus influencées par l'entraînement et les effets environnementaux que le TRC qui est très nettement influencé par la génétique. Le TRC pourrait être un critère améliorable par la sélection génétique.

Etude 4 : Analyse de la variabilité de la fréquence cardiaque (VFC) au cours du repos, de l'effort et de la récupération chez des jeunes chevaux d'endurance

-La VFC diminue entre 4 et 6 ans, lorsque la durée de l'exercice augmente et en conditions environnementales chaudes et humides.

-La VFC en général et la RMSSD (qui reflète l'activité parasympathique) en particulier semble être des indicateurs fiables de la récupération cardiaque chez le cheval d'endurance.

Etude 5 : Effet des bêta-bloquants et des Alpha-2-agonistes sur la variabilité cardiaque au repos et post effort chez le cheval

- L'injection de 0,85 mg de détomidine par voie intra-veineuse à l'arrêt de l'exercice, accélère la récupération cardiaque (TRC) et augmente la VFC pendant la récupération.

- La VFC pourrait être utilisée comme un moyen indirect de détection des chevaux dopés par les substances bradycardisantes sur les épreuves d'endurance.

6.2. Résultats : apports de la thèse

Cette thèse a permis d'identifier des critères d'efficacité cardiaque chez le cheval d'endurance et des facteurs influençant la performance. Les applications potentielles concernent tous les niveaux d'utilisation : élevage, entraînement et compétition.

6.2.1. Risque d'élimination en course d'endurance

Plusieurs études (*Nagy et al. 2010, 2014 ; Barnes et al. 2010 ; Marlin et al. 2008*) ont dénoncé le taux élevé d'élimination sur les courses d'endurance de 80 à 160 km (proche de 50%). Les facteurs favorisant évoqués sont un nombre élevé de partants, une piste avec du dénivelé, des conditions météorologiques extrêmes ou un niveau d'entraînement insuffisant. D'autres études (*Marlin et al. 1996, 2002*) ont montré que dans les pays chauds et humides, le risque d'élimination pour troubles métaboliques augmente en raison de la déshydratation et du déséquilibre électrolytique plus sévères qu'en climat tempéré. Cependant, aucune étude n'a pu établir de relation de cause à effet entre les critères individuels de gestion de la course et le risque d'élimination. L'étude 1 de ce travail contribue à répondre à cette lacune. Elle a permis d'identifier des profils de course différents entre les chevaux éliminés et les chevaux classés : les premiers courent à des vitesses plus élevées et mettent plus de temps à récupérer avec des valeurs de fréquence cardiaque plus élevées que les chevaux classés. D'un point de vue physiologique, ces résultats s'expliquent parfaitement (*Cottin et al. 2005, 2006 ; Hautala et al. 2001*).

1/ Une vitesse plus élevée est le fruit d'une activité musculaire plus intense. Plus le muscle travaille, plus il y a de chaleur produite et plus les mécanismes de thermorégulation sont sollicités, augmentant ainsi le risque de développement de troubles métaboliques.

2/ Soutenir une vitesse élevée peut favoriser le recours au métabolisme anaérobie, au moins sur de courtes périodes, et l'accumulation d'acide lactique. Chez les animaux correctement entraînés et hydratés, ce dernier peut être recyclé et l'effort peut continuer sans dommage. Chez les chevaux moins entraînés ou déshydratés, l'acide lactique n'est pas éliminé ce qui est à l'origine de crampes.

3/ L'appareil locomoteur est davantage sollicité à vitesse élevée, les chocs sur les membres sont plus intenses et plus fréquents. Il est également plus difficile pour le cavalier de contrôler la trajectoire du cheval et de gérer les inégalités du terrain. Le risque de boiterie est donc augmenté.

4/ La fréquence cardiaque augmente avec la vitesse. Les chevaux les plus rapides sur la piste arrivent donc à la fin de l'étape avec une fréquence cardiaque plus élevée. Ils ont donc besoin de davantage de temps pour récupérer. La fréquence cardiaque à l'effort pour une même vitesse diminue avec l'entraînement. Les chevaux bien entraînés peuvent donc aller plus vite avec une fréquence cardiaque basse et récupérer aussi vite qu'à une vitesse plus lente.

En pratique, si la vitesse apparaît comme un risque majeur d'élimination en endurance, l'endurance est « une compétition contre le chronomètre » (règlement FEI). Le cavalier doit donc gérer la course à la vitesse la plus rapide par rapport aux capacités et au niveau d'entraînement de son cheval. Les meilleurs sujets peuvent ainsi soutenir une vitesse rapide sans dommage, tandis que les moins bons peuvent terminer la course à vitesse plus lente. Le risque se situe pour les couples cavalier-cheval qui vont trop vite par rapport à leurs capacités. Ce résultat rejoint celui d'une étude épidémiologique menée en 2003 qui montrait que cavaliers et chevaux peu expérimentés étaient sur-représentés dans la population des chevaux soignés pour troubles métaboliques en comparaison des chevaux ayant terminé la course (*Langlois 2003*).

L'étude 2 complète l'étude 1 en proposant, pour chaque étape de la course, des valeurs seuils de temps de récupération cardiaque associées à un risque élevé d'élimination à l'étape suivante. Elle propose ainsi un nouvel élément d'aide à la décision pour les vétérinaires et les cavaliers lors du contrôle vétérinaire. Actuellement, les vétérinaires s'appuient sur l'examen clinique du cheval pour choisir de proposer un cheval à l'élimination : bien que fiables (*Barnes et al. 2010*), les critères utilisés sont pour la majorité subjectifs et dépendants de l'expérience du vétérinaire.

Ces deux études apportent donc des données chiffrées objectives d'un intérêt pratique évident pour une gestion optimale des chevaux d'endurance en course.

1/ Pour les cavaliers : le lien entre vitesse et risque d'élimination étant maintenant établi, il est indispensable qu'ils gèrent la vitesse par rapport aux capacités de leur monture et non par rapport à celle des autres chevaux sur la course ;

2/ Pour les vétérinaires : le temps de récupération constitue avec la fréquence cardiaque une donnée mesurable, objectible et facile à utiliser pour évaluer le niveau de forme des chevaux qu'ils examinent. Les valeurs seuils de risque d'élimination constituent un excellent argument de discussion avec les cavaliers. Lors de risque

élevé d'élimination à l'étape suivante, le cavalier peut être encouragé à abandonner, l'abandon étant règlementairement moins pénalisant pour cheval et cavalier qu'une élimination pour trouble métabolique ou pour boiterie.

A moyen terme, la diffusion de ces résultats à la communauté des cavaliers et des vétérinaires d'endurance devrait amener à une meilleure protection du cheval, les chevaux étant mieux gérés sur les courses et, si nécessaire, retirés de la compétition plus précocement, avant le développement de troubles majeurs.

L'objectif ultime serait que le temps de récupération cardiaque soit règlementairement abaissé. Actuellement, la FC d'élimination est fixée à 64 bpm après 20 min de récupération (*FEI. 2014*). A partir de nos chiffres, la période de récupération autorisée pourrait être abaissée à 12 min pour obliger les cavaliers à être plus raisonnables sur la piste.

6.2.2. Sélection des chevaux d'endurance

Les outils de sélection génétique ont beaucoup évolué ces dernières années pour les animaux de production. La filière équine est très en retard dans le domaine. Les éleveurs de chevaux d'endurance ont actuellement à leur disposition un indice de performance constitué à partir d'une pondération de trois sous-indices : distance, vitesse et classement (*Ricard et Touvais 2005*). Les héritabilités de la vitesse de course et du classement sur des épreuves d'endurance de 80 à 160 km ont été estimées respectivement à 28 % et 6 % (*Ricard et Touvais 2007*).

Les bases génétiques de la fonction cardiaque n'ont en revanche pas été évaluées chez le cheval d'endurance, bien que les valeurs de FC et le TRC interviennent systématiquement pour le classement des chevaux en compétition. Le facteur cardiaque est bien sûr très influencé par l'entraînement chez l'homme (*Tulppo et al. 1998a, 1998b*) comme chez le cheval (*Bitschnau et al. 2010*). Néanmoins, chez l'homme, l'héritabilité de la FC de récupération après un test d'effort sur tapis roulant est de 30% (*Ingelsson et al. 2007*).

Dans l'étude 3, nous avons estimé les héritabilités du TRC, de la FCR et de la vitesse à respectivement 46 %, 15 % et 12 %. Cela signifie que la valeur du TRC, paramètre majeur en courses d'endurance puisque les chevaux qui mettent plus de 20 min à récupérer sont éliminés, est pour presque la moitié déterminée par la génétique. Il est donc très facile d'améliorer les performances des chevaux d'endurance en les sélectionnant sur ce critère. A l'inverse, l'entraînement aura moins d'influence sur le

TRC qu'il n'en a sur la FC ou la vitesse. Ces informations sont capitales pour les éleveurs et les entraîneurs.

Actuellement, le TRC est systématiquement mesuré sur toutes les courses d'endurance à vitesse libre, mais il n'est pas conservé dans les bases de données de performance que ce soit au niveau national ou international. Seules la vitesse moyenne et l'issue de la course (rang de classement ou élimination) sont archivées. Nos résultats militent en faveur de l'archivage de ce critère et de son utilisation ultérieure pour la constitution d'un indice de récupération cardiaque qui pourrait être proposé aux éleveurs soit isolé, soit en combinaison avec les trois autres indices déjà existant.

Dans l'étude 4, nous avons montré que les chevaux qui récupèrent vite après un test d'effort standardisé ont des valeurs de RMSSD élevées. Cet indice (RMSSD) de la VFC est facile à calculer et reflète la puissance du système parasympathique qui est responsable de récupération après un effort. La RMSSD est donc un paramètre en amont du TRC dont nous venons de voir l'importance en course (études 1 et 2) et la caractère héritable (étude 3). La RMSSD pourrait donc être mesurée en-dehors du contexte de course, en particulier chez les chevaux trop jeunes pour participer à des épreuves à vitesse libres, les seules où le TRC est mesuré. L'entraînement des chevaux d'endurance comprend des sessions de galop (*Leclerc 2007*). Il est tout à fait possible pour les entraîneurs d'équiper leurs jeunes chevaux avec des cardiofréquence-mètre et de quantifier la VFC (RMSSD) pendant l'effort et surtout pendant la récupération lors de ces séances d'entraînement. Ils disposent ainsi d'un moyen d'évaluer la qualité de leurs chevaux et de les comparer entre eux. Obtenir des valeurs standardisées de TRC et RMSSD leur permettant d'orienter précocement leurs chevaux vers le haut niveau ou vers loisir en fonction de leur qualité intrinsèque.

6.2.3. Dopage en course d'endurance

Le TRC est le facteur essentiel de la performance en endurance équestre puisqu'il conditionne le temps de course et le passage au contrôle vétérinaire. Nos trois premières études montrent que son usage pourrait être renforcé, avec des règles de passage au contrôle vétérinaire plus drastiques ou l'édition d'un indice de récupération cardiaque pour la sélection des chevaux d'endurance. La tentation est donc grande et pourrait encore s'accroître, pour les concurrents d'utiliser des substances bradycardisantes afin d'abaisser artificiellement le TRC. Ces méthodes sont strictement interdites par les règlements équestres national et international (FFE et

FEI) et les organismes de lutte contre le dopage (AFLD et WADA). Ce type de dopage a deux conséquences majeures :

1/ en terme de protection et de bien-être du cheval - Abaisser artificiellement la fréquence cardiaque en compétition supprime le principal critère vétérinaire d'évaluation de la santé du cheval au vet-gate : la FC est le premier paramètre modifié lors de désordre hydro-électrolytique et de fatigue (*Cottin et al. 2006 ; Hautala et al. 2001 ; Tulppo et al. 1998a*). Ainsi, les chevaux peuvent être considérés comme aptes à poursuivre la compétition alors qu'ils ne le sont pas. Par ailleurs, l'organisme des chevaux ayant reçu des substances bradycardisantes est lui aussi trompé et n'est plus capable de mettre en place les mécanismes compensateurs ce qui conduit à l'épuisement total. En France, deux cas de décès de chevaux d'endurance sur des courses (en 2012 et 2014) sont associés à un dopage à la xylazine (alpha-2 agoniste) (source AFVEE).

2/ en terme de sélection - lorsque l'administration de substances bradycardisantes ne conduit pas à la catastrophe évoquée ci-dessus, les chevaux terminent la course avec de meilleures performances que celles qu'ils auraient réalisées sans médication. Des chevaux moyens peuvent donc à tort se retrouver parmi les meilleurs. L'indexation des chevaux reposant non seulement sur leurs performances propres, mais également sur celles de leurs collatéraux participants aux mêmes courses, l'évaluation de l'ensemble de la population se retrouve biaisée. C'est pour cette raison que l'ACA, porteuse du programme d'élevage des chevaux d'endurance s'est lancée dans une campagne d'information et de lutte contre le dopage (http://www.acafrance.org/FR/l_aca/campagne_anti-dopage.asp).



L'effet des substances bradycardisantes (BB et A2A) sur la VFC est bien documenté chez l'homme (*Brown et al. 1976*) ainsi que chez le cheval (*Ohmura et al. 2001 ; Hada et al. 2006*). Cependant, notre étude (étude 5) est la seule à avoir testé ces substances chez le cheval pendant la récupération cardiaque. Ainsi, nous avons montré que le propranolol (BB) et la détomidine (A2A) ralentissent le cœur et

accélèrent la récupération cardiaque des chevaux après l'effort, confirmant leur intérêt potentiel dans le cadre des compétitions d'endurance. Ces substances doivent être mieux contrôlées et ciblées par les organismes de lutte contre le dopage, surtout pour les chevaux qui présentent des valeurs de FCR très basses au contrôle vétérinaire.

D'autre part, nous avons identifié des modifications caractéristiques des composantes spectrales (HF et LF) de la VFC après l'administration de ces substances. Ces modifications caractéristiques pourraient être des indices fiables pour la détection des substances bradycardisantes sur les épreuves d'endurance. Pour l'instant, nous ne disposons pas de données sur un nombre suffisant d'individus et elles n'ont pas été obtenues en condition de course. Mais si des études ultérieures confortaient nos résultats préliminaires, et permettaient de déterminer des valeurs seuils, il serait possible d'utiliser les modifications de la VFC pour identifier les chevaux ayant reçu des substances bradycardisantes pour passer le contrôle vétérinaire plus rapidement. Actuellement, le cardio-fréquencemètre est déjà utilisé en routine sur les compétitions de haut niveau avec affichage en direct de la FC. Un petit traitement informatique du signal permettrait de calculer les valeurs en HF et LF de la VFC. Celles-ci pourraient être utilisées par les vétérinaires d'une part comme indice de fiabilité de la FC, une FC basse avec une VFC suspecte pouvant être considérée comme non fiable, d'autre part comme élément de suspicion de dopage pour faire effectuer les prélèvements sur les chevaux concernés lors de contrôles de médication.

6.2.4. Maturation cardiaque du cheval d'endurance

Les résultats de notre travail peuvent avoir, nous venons de le voir, des applications directes pour améliorer la gestion des chevaux sur les courses d'endurance ou pour la sélection des sujets ayant le meilleur potentiel. Cette thèse apporte également des connaissances plus fondamentales en termes de maturation cardiaque et de conditions d'étude de la fonction cardiaque chez le cheval d'endurance.

L'étude 4 a permis de montrer que la FC et la VFC (RMSSD) diminuent entre 4 et 6 ans chez le jeune cheval d'endurance dans différentes conditions (au repos, à l'effort et pendant la récupération). Cette maturation de la fonction cardiaque semble se poursuivre jusqu'à 8 ans puisque dans l'étude 1, les chevaux de 6-8 ans présentent un TRC plus élevé que les chevaux plus âgés alors qu'ils courent moins vite. En revanche, aucune différence n'a pu être mise en évidence entre les chevaux d'âge intermédiaire (9-11 ans) et les chevaux âgés de 12 ans ou plus. Ces résultats inédits chez le cheval sont conformes à ce qui s'observe dans l'espèce humaine. Chez l'homme, la performance physique en général et la VFC en particulier sont très

influencées par l'âge (*Antelmi et al. 2004 ; Carter et al. 2003*) ; la FC et la VFC diminuent de l'adolescence à l'âge adulte (*Brandenberger et al. 2001 ; Filliau et al. 2014*).

Néanmoins, notre étude ne permet pas de différencier l'effet de l'âge de l'effet de l'entraînement ou de l'expérience. Les compétitions d'endurance sont ouvertes aux chevaux par classe d'âge, les chevaux de 4 ans ne pouvant participer qu'à des courses de 20 à 40 km, tandis que les chevaux doivent attendre 8 ans pour atteindre le haut niveau. De même, dans l'étude 4, la durée des tests d'effort augmentait avec l'âge. Les effets entraînement, âge et expérience en compétition sont donc confondus. L'entraînement a des effets bien documentés sur la performance physique et la VFC chez l'homme (*Carter et al. 2003*) ainsi que chez le cheval (*Kuwahara et al. 1999*). Pour évaluer la qualité d'un cheval d'endurance, il est donc nécessaire de le comparer à des individus du même âge sur le même type d'effort.

Enfin, nous avons montré dans la même étude que les différents indices de la VFC étaient très influencés par le site d'expérimentation. Ces résultats sont concordent là encore avec l'étude 1 où un effet pays a été mis en évidence sur les performances en course. Les conditions environnementales (température, humidité, type de terrain, l'altitude,...) sont des facteurs qui modifient les réponses physiologiques et surtout la VFC chez l'homme et chez le cheval (*Marlin et al. 2001 ; McCutcheon et al. 2010 ; Robert et al. 2010*).

6.3. Limites du travail et solutions proposées

Bien que cette thèse ait permis d'identifier des critères de performance pertinents chez le cheval d'endurance, elle présente des limites qu'il faut identifier pour tenter de les combler ultérieurement.

6.3.1. Matériels utilisés

Les matériels utilisés pour l'enregistrement de l'activité cardiaque à l'effort sur les chevaux, le cardio-fréquencemètre Polar S810[®] et le holter ECG Televet 100[®] sont d'un usage courant chez le cheval dans cette indication (*Cottin et al. 2006 ; Fonseca et al. 2010 ; Kingston et al. 2006 ; Munster et al. 2014 ; Tulppo et al. 1998a, 1998b*) et les seuls actuellement disponibles (aux variations de modèles et aux évolutions technologiques près) pour cette espèce. Le Polar S810[®] a été validés pour l'analyse de la VFC chez l'homme (*Gamelin et al. 2006*) mais jamais chez le cheval. De même, la corrélation entre enregistrements Polar et Televet[®] n'a jamais été vérifiée chez le

cheval. Bien que les seuls utilisables chez le cheval, ces appareils présentent néanmoins des inconvénients et des limites non négligeables à l'usage.

✓ Qualité des enregistrements R-R obtenus avec le Polar S810®

Au repos, il est souvent difficile d'obtenir un contact permanent entre la peau et les capteurs du Polar®. Il est nécessaire d'humidifier largement la peau et de maintenir cette hydratation à l'aide d'un gel de contact ; lorsque la peau et le gel sèchent, l'enregistrement devient intermittent et de mauvaise qualité. Ceci nous a gêné pour les enregistrements avant et après effort (étude 4 et 5) et au repos (étude 5). A l'effort, les mouvements antéro-postérieur du thorax du cheval au galop sont à l'origine de légers déplacements de la sangle à chaque foulée et les mouvements des jambes du cavalier contre la sangle provoquent des frictions sur les capteurs Polar® peuvent donc se déplacer et les électrodes Televet® se décoller. Ces limites ont un impact direct sur la qualité des enregistrements cardiaques au repos et à l'effort.

On peut classer les enregistrements cardiaques (intervalle RR) mesurés dans le cadre de cette thèse à l'aide du Polar®, en trois catégories selon la qualité :

- les enregistrements (RR) de bonne qualité représentent environ 30 % de l'ensemble des enregistrements réalisés. Ils sont exploitables à 100% pour l'analyse de la VFC (Figure 24).
- les enregistrements (RR) d'une qualité moyenne représentent environ 31 % de l'ensemble des enregistrements (Figure 24). Ils contiennent des artéfacts sous forme des valeurs aberrantes (RR doublés voire triplés). Ces artéfacts sont faciles à corriger à l'aide du logiciel Polar qui est doté de filtres à plusieurs niveaux de précision. Des corrections manuelles des intervalles RR doivent ensuite être effectuées à l'aide d'une macro Excel pour obtenir des signaux corrigés exploitables.
- les enregistrements (RR) de très mauvaise qualité (39 % du total) sont inexploitable car ils présentent un grand nombre d'artéfacts pendant l'effort (Figure 24).

Les artéfacts sous forme de valeurs aberrantes modifient les résultats des analyses de la VFC dans les deux domaines : temporel (Graphe de point carré plot) et fréquentiel (SPWVD). Il est indispensable de vérifier la qualité des signaux cardiaques avant toute analyse de la VFC.

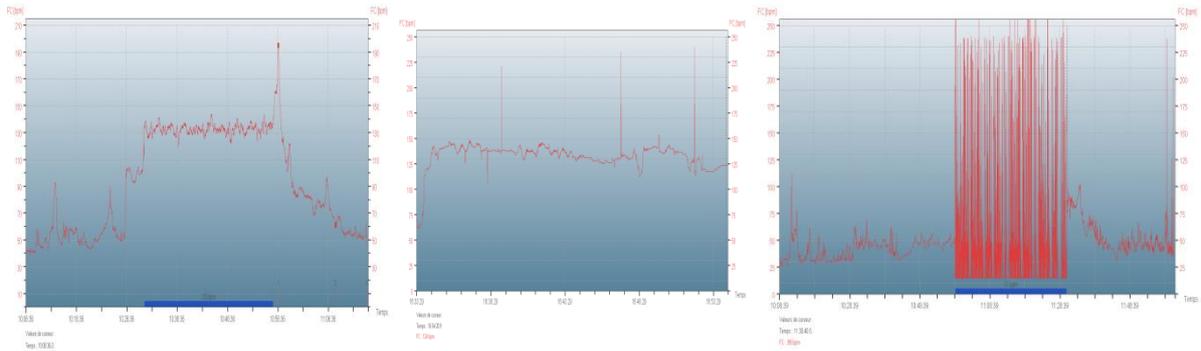


Figure 24 : Exemple d'enregistrements cardiaques (RR) de bonne qualité (a), de qualité moyenne (b) et de mauvaise qualité (c) obtenus chez des jeunes chevaux d'endurance lors d'un test d'effort au galop.

Par ailleurs, la plupart des chevaux présentent une hyperpolarisation de l'onde T par rapport l'homme sur un ECG (Figure 25). Cette hyperpolarisation peut être une cause des artéfacts observés (QRS + T) sur les enregistrements Polar®. D'autre part, les troubles du rythme cardiaque (bloc atrio-ventriculaire et les extrasystoles) observés chez le cheval peuvent être aussi une cause des valeurs aberrantes (RR doublés en cas d'extrasystoles) sur les enregistrements cardiaque. En plus, le système de filtrage des cardio-fréquencesmètres Polar® est plus adapté à l'homme que le cheval.

✓ Enregistrements ECG obtenus avec le Televet 100®

Le Televet 100® est un holter à 4 dérivation, simple à utiliser et qui fournit un ECG d'excellente qualité au repos. A l'effort, les chevaux transpirent beaucoup et les électrodes se détachent facilement de la peau du cheval, conduisant à la perte du signal (Figure 25). Pour tenter de résoudre ce problème, nous avons utilisé des fourreaux de sangle adapté et ajouté quatre points de colle sur chaque électrode pour une meilleure fixation au poil pendant l'exercice. Ceci a permis de réduire la perte d'information sans néanmoins réussir à l'annuler, en particulier lors d'enregistrement par temps chaud (en Corse et à Aurabelle dans l'étude 4).

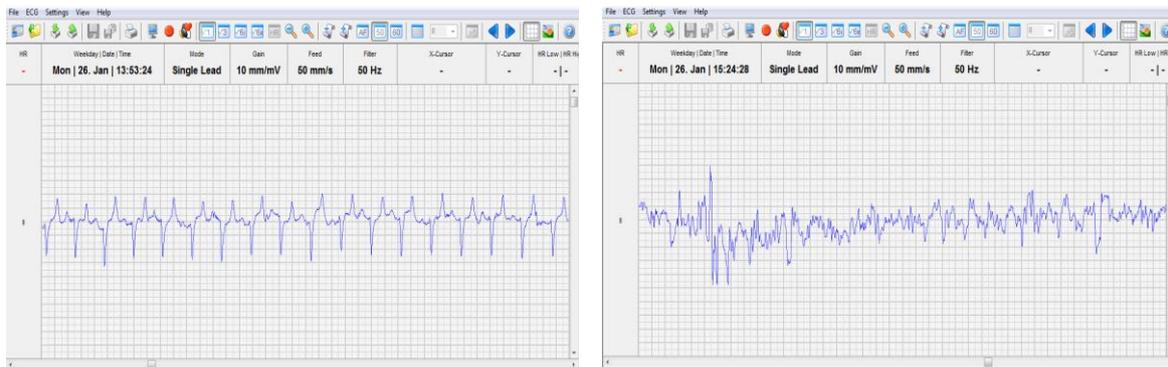


Figure 25 : ECG de bonne qualité (a) et de mauvaise qualité (b) suite au détachement d'une ou de deux électrodes pendant l'effort.

✓ Bilan – enregistrements combinés Polar® et Televet 100®

Le holter ECG Televet 100® est avant tout développé pour les enregistrements au repos alors que le Polar® est plus adapté pour les enregistrements à l'effort, la sueur assurant un meilleur contact peau-électrodes. C'est pour cela que nous avons utilisé en parallèle les deux appareils afin de maximiser les chances d'avoir un signal exploitable dans toutes les circonstances d'enregistrement. Au final, pour l'étude 4, nous avons des données d'activité cardiaques complètes (repos + effort + récupération) pour 61% des 96 tests d'effort réalisés.

Pour la réalisation d'études ultérieures, il est donc indispensable de prévoir des améliorations techniques pour augmenter la proportion d'enregistrements cardiaques exploitables :

- adapter la selle et/ ou la sangle pour limiter les mouvements et le détachement des électrodes à l'effort ;
- modifier la forme et la structure des électrodes pour asurer un contact électrique continu ;
- utiliser des capteurs/enregistreurs sans fil pour supprimer les mouvements inévitables des fils électriques pendant les tests d'effort ;
- améliorer le filtrage des enregistrements Polar avec des routines adaptées au cheval.

6.3.2. Effectifs

Les études 1, 2 et 3 reposent sur la même base de données de 7.032 départs en courses d'endurance à vitesse libre entre 2011 et 2007. Ils représentent 25% de l'ensemble des engagements sur les épreuves internationales à cette période. Cet effectif peut donc être considéré comme conséquent au regard de la population des chevaux d'endurance. Il est également supérieur à ceux des autres études menées

dans la discipline : 4.326 chevaux pour Nagy et al. (2010), 3.493 départs pour Fielding et al. (2011) et 1.435 chevaux pour Nagy et al. (2014a-venue). Seule une étude menée sur l'ensemble des courses entre 2008 et 2011 (Nagy et al. 2014b-epidemiology) porte sur une population plus large (30.741 départs) ; néanmoins, les paramètres étudiés sont beaucoup plus simples puisque seules la vitesse moyenne et l'issue de la course (classement ou élimination + motif éventuel) sont retenus pour chaque individu.

Pour l'étude de l'héritabilité des paramètres cardiaques (étude 3), le nombre d'observations a été réduit aux 4.421 chevaux français aux ascendants connus. Cet effectif est acceptable d'un point de vue statistique mais reste faible en comparaison avec l'étude de Ricard et Touvais (2007) avec 9.059 observations en course d'endurance. Par ailleurs, la stratification des chevaux par famille est peu adaptée à une étude d'héritabilité puisque peu d'entre eux sont apparentés par le père (655 pères différents) et très peu par la mère (1744 mères différentes).

L'étude 4 repose sur 96 tests d'effort de terrain ; avec les aléas matériels (cf. ci-dessus), nous ne disposons que de 59 enregistrements cardiaques complets, réalisés sur des chevaux de trois classes d'âge, sur quatre sites en neuf séances d'enregistrement différentes. Cet effectif est insuffisant et l'effet manipulation trop fort pour mettre en évidence des effets de l'âge ou de l'entraînement statistiquement significatifs. Il aurait fallu recruter davantage de chevaux sur chaque site pour améliorer la puissance de notre étude. Par rapport à d'autres études avec des protocoles assez similaires, l'effectif est déjà élevé (24 chevaux pour Kuwahara et al. 1999, 19 chevaux pour Kingston et al. 2006, 12 pour Vermeulen et Evans 2006, 102 chevaux pour Fonseca et al. 2010).

Dans l'étude 5, seulement 3 chevaux ont été utilisés pour déterminer l'effet des substances bradycardisantes sur la récupération cardiaque. Cette expérimentation a été conçue sous forme d'un carré latin de telle sorte que chaque cheval reçoive une seule fois le même traitement ce qui représente au final 9 observations (limite statistique). Il est bien évident que cet effectif n'est pas suffisant pour généraliser les résultats obtenus. Cette limite était connue et acceptée dès le départ. Il s'agit d'une étude préliminaire et les objectifs initialement fixés ont été remplis. Elle devrait à l'avenir être reproduite sur un nombre plus élevé de sujet, et si possible des chevaux physiologiquement plus proches des chevaux d'endurance de haut niveau, avant d'envisager des applications pratiques.

6.4. Perspectives

Les perspectives en termes d'application pratiques ont déjà été évoquées lors de la discussion des résultats. Nous envisagerons ici les perspectives générales de la thèse en tenant compte des limites évoquées précédemment.

Intérêt et valeurs seuil de TRC en course

Les études sur les données de courses pourraient être complétées à l'aide de données plus récentes, sur la période 2011-2015. Ce nouvel échantillon permettrait :

D'augmenter la population de référence ;

D'avoir une population plus représentative de la population actuelle de chevaux d'endurance, le recours au chronométrage automatique s'étant généralisé depuis 2011 et devenu plus fréquent pour des courses moins prestigieuses qu'en 2007-2011 ;

De vérifier sur un échantillon de test de taille substantielle que les valeurs seuil de TRC que nous avons proposées sont bien valables ;

D'améliorer la précision des calculs d'héritabilité de la FC et du TRC et de proposer un indice « cardiaque » pour les chevaux d'endurance.

Tests d'effort chez les jeunes chevaux d'endurance

L'exploitation des tests d'effort sur les jeunes chevaux n'est pas terminée : plusieurs études complémentaires à l'étude 4 sont en cours et certains prolongements peuvent être envisagés.

1/ les chevaux examinés lors des tests ont également été soumis à examen échocardiographique avant et après effort. Ces données font actuellement l'objet d'une analyse séparées. Elles pourraient être mises en relation avec les analyses de VFC pour évaluer par exemple s'il existe une corrélation entre VFC et taille ou contractilité du cœur (*Antelmi et al. 2004*).

2/ Dans le cadre de l'étude 4, les enregistrements ECG Télévet® n'ont été exploités que pour calculer la FC et la VFC lors de défaillance des enregistrements du cardiofréquence-mètre Polar®. Une analyse plus fine des ECG doit donc être réalisée pour déterminer si certains chevaux présentaient des irrégularités ou des troubles du rythme à l'effort.

3/ Nous avons cité dans les limites de cette étude l'absence de validation du Polar® chez le cheval. Nous disposons d'enregistrements simultanés Polar® et Télévet sur une quarantaine de chevaux. Ils peuvent être exploités pour vérifier s'il y a une bonne

corrélation entre les deux méthodes de mesures pour les paramètres fournis par les deux appareils (FC et VFC).

4/ des enregistrements accélérométriques des allures ont été effectués lors des tests d'effort. Là aussi, ils font l'objet d'une analyse individuelle séparée. Il serait intéressant de voir s'il existe un lien entre les paramètres locomoteurs et les paramètres cardiaques à l'effort. Ceci permettrait éventuellement de déterminer les caractéristiques d'une locomotion économique sur le plan cardiaque. (*Ratzlaff et al. 1997 ; Robin et al. 2009 ; Setterbo et al. 2009*).

5/ Enfin, l'un des objectifs initiaux de la mise en œuvre des tests d'effort chez les jeunes chevaux était de déterminer des critères précoces d'aptitude à l'effort d'endurance. L'étude des performances ultérieures des chevaux en compétition pourrait permettre de déterminer si les valeurs mesurées lors de ces tests ont un intérêt prédictif de la performance à l'âge adulte ou si inversement, elles ne sont que le reflet de l'âge, du niveau d'entraînement et de maturité du jeune cheval. Ce travail ne pourra être mis en œuvre qu'en 2017 lorsque les chevaux de 4 ans mesurés en 2014 auront atteint l'âge de 7 ans et auront participé à leurs premières courses à vitesse libre.

Paramètres indirects de détection du dopage aux substances bradycardisantes

Les résultats de l'étude 5 doivent être confirmés en situation réelle de course pour plusieurs raisons :

Les chevaux sont généralement plus stressés en situation de course, ce qui peut influencer la VFC.

La durée de l'effort pendant les courses de longue distance (80-160 km) peut conduire à des modifications de la VFC plus marquées liées à la fatigue, ou à des modifications variables selon le moment de la course : les études sur l'équilibre hydro-électrolytique des chevaux en course d'endurance montrent en général une déshydratation marquée avec perte de poids pendant la première moitié de la course, puis une récupération partielle pendant la seconde moitié de la course (*Robert et al. 2002, 2010*).

L'étude des interactions du couple cavalier-cheval est un sujet d'actualité (*Viry et al. 2013, 2014*). On peut envisager une étude sur la VFC du couple cavalier-cheval ce qui peut engendrer d'autres critères liés à la performance en endurance équestre.

7. Conclusion générale

Un bon cheval d'endurance doit être capable de parcourir de longues distances (80 à 160 km) sans développer de troubles locomoteurs et doit récupérer rapidement à l'arrêt de l'exercice. L'étude de l'activité cardiaque en course, lors de tests d'effort standardisés et lors de l'administration de substances bradycardisantes a permis d'identifier des indices cardiaques (TRC, FCR, RMSSD) en relation avec la performance chez le cheval d'endurance. Ces indices varient en fonction de l'âge du cheval et des conditions environnementales. Ils ont également un support héréditaire d'importance variable, avec une héritabilité évaluée à 14% pour la FCR et jusqu'à 45 % pour le TRC.

Les résultats de ce travail ont des applications directes pour les éleveurs, les cavaliers et les vétérinaires d'endurance. Le temps de récupération cardiaque (TRC) en course, paramètre clé de la performance du cheval d'endurance, pourrait facilement être utilisé pour la sélection des meilleurs chevaux aussi bien à l'entraînement que pour la reproduction.

Au niveau préventif et bien-être des chevaux en course d'endurance, il est possible de mieux prédire le risque d'élimination en course d'endurance avec une fiabilité de 75% à partir de l'analyse de la vitesse et des paramètres cardiaque (FCR et TRC) pendant la course. D'autre part, dans le cadre de la lutte anti-dopage l'analyse de la VFC pourrait être une méthode innovante et non-invasive de suspicion d'utilisation de substances bradycardisantes en endurance équestre.

Cette thèse contribue à apporter des bases physiologiques et scientifiques pour un entraînement et une sélection raisonnés des chevaux d'endurance.

Bibliographie

Articles de périodiques

- Acharya, R. M., U. D. Gupta, J. P. Sehgal, and M. Singh. "Coat Characteristics of Goats in Relation to Heat Tolerance in the Hot Tropics." *Small Ruminant Research* 18, no. 3 (November 1995): 245–48. doi:10.1016/0921-4488(95)00703-6.
- Agüera, E. I., M. D. Rubio, R. Vivo, R. Santisteban, A. Muñoz, and F. Castejón. "Blood Parameter and Heart Rate Response to Training in Andalusian Horses." *Revista Española De Fisiología* 51, no. 2 (June 1995): 55–64.
- Akselrod, S., D. Gordon, F. A. Ubel, D. C. Shannon, A. C. Berger, and R. J. Cohen. "Power Spectrum Analysis of Heart Rate Fluctuation: A Quantitative Probe of Beat-to-Beat Cardiovascular Control." *Science (New York, N.Y.)* 213, no. 4504 (July 10, 1981): 220–22.
- Al-Hazzaa, H. M., and A. C. Chukwuemeka. "Echocardiographic Dimensions and Maximal Oxygen Uptake in Elite Soccer Players." *Saudi Medical Journal* 22, no. 4 (April 2001): 320–25.
- Amory, H., D.-M. Votion, A. Fraipont, A. G. Goachet, C. Robert, F. Farnir, and E. Van Erck. "Altered Systolic Left Ventricular Function in Horses Completing a Long Distance Endurance Race." *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 38 (November 2010): 216–19. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00253.x.
- Antelmi, I., R. de Paula, AR. Shinzato, C. Peres, A. J. Mansur, and C. J. Grupi. "Influence of Age, Gender, Body Mass Index, and Functional Capacity on Heart Rate Variability in a Cohort of Subjects without Heart Disease." *The American Journal of Cardiology* 93, no. 3 (February 1, 2004): 381–85. doi:10.1016/j.amjcard.2003.09.065.
- Armstrong, L. E., and C. M. Maresh. "The Induction and Decay of Heat Acclimatisation in Trained Athletes." *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)* 12, no. 5 (November 1991): 302–12.
- Art, T., and P. Lekeux. "Training-Induced Modifications in Cardiorespiratory and Ventilatory Measurements in Thoroughbred Horses." *Equine Veterinary Journal* 25, no. 6 (November 1993): 532–36.
- Art, T., D. H. Duvivier, E. van Erck, B. de Moffarts, D. Votion, D. Bedoret, J. P. Lejeune, P. Lekeux, and D. Serteyn. "Validation of a Portable Equine Metabolic Measurement System." *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 36 (August 2006): 557–61.
- Art, T., H. Amory, and P. Lekeux. "Affections musculaires et intolérance à l'effort. 1- Pathogénie et approche diagnostique." *Pratique Vétérinaire Equine* 32 (2000): 299–304.
- Art, T., H. Amory, and P. Lekeux. "Notions de Base de Physiologie de L'effort." *Pratique Vétérinaire Equine* 32 (2000a). <http://orbi.ulg.ac.be/handle/2268/8290>.
- Assenza, A., F. Tosto, S. Casella, F. Fazio, C. Giannetto, and G. Piccione. "Changes in Blood Coagulation Induced by Exercise Training in Young Athletic Horses." *Research in*

Veterinary Science 95, no. 3 (December 2013): 1151–54. doi:10.1016/j.rvsc.2013.07.005.

Auvinet, B., and T. Demonceau. “Measurement of Heart Rate and Blood Lactate during Trotting Races.” *The Equine Athlete* 5 (1992): 9.

Auvinet, B., P. Galloux, J. M. Michaux, M. Franqueville, O. Lepage, A. Ansaloni-Galloux, and C. Coureau. “Test D’effort Standardisé de Terrain Pour Chevaux de Concours Complet (TEST).” *Science & Sports* 6, no. 2 (1991): 145–52.

Bailey, E. “Heritability and the Equine Clinician.” *Equine Veterinary Journal* 46, no. 1 (January 2014): 12–14. doi:10.1111/evj.12196.

Bailey, S. P., and R. R. Pate. “Feasibility of Improving Running Economy.” *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)* 12, no. 4 (October 1991): 228–36.

Baillard, C., P. Gonçalves, L. Mangin, B. Swynghedauw, and P. Mansier. “Use of Time Frequency Analysis to Follow Transitory Modulation of the Cardiac Autonomic System in Clinical Studies.” *Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical* 90, no. 1–2 (July 20, 2001): 24–28. doi:10.1016/S1566-0702(01)00263-6.

Barnes, A., J. Kingston, S. Beetson, and C. Kuiper. “Endurance Veterinarians Detect Physiologically Compromised Horses in a 160 Km Ride.” *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 38 (November 2010): 6–11. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00225.x.

Barrey, E. “Reviewe: Genetics and Genomics in Equine Exercise Physiology: An Overview of the New Applications of Molecular Biology as Positive and Negative Markers of Performance and Health.” *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 38 (November 2010): 561–68. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00299.x.

Barrey, E. « A software simulation of energy expenditure in competing horses ». *Science & Sports* 8, no 2 (1993): 109-115. doi:10.1016/S0765-1597(05)80056-5.

Barrey, E., A. Courouze, B. Langlois, C. Blouin, and B. Auvinet. “Genetic Component of Exercise Test Parameters in French Trotters: First Estimations.” In *Conference on Equine Sports Medicine and Science (CESMAS)*. Córdoba, Spain, 219–23, 1998.

Barrey, E., B. Landjerit, and R. Wolter. “Shock and Vibration during the Hoof Impact on Different Track Surfaces.” *Training* 1, no. 94.6 (1991): 94–96.

Benamou-Smith, A. (2003) Physiologie sportive du cheval d’endurance. Congrès de l’AVEF, Montpellier, 30 octobre-1^{er} novembre 2003, 166-167.

Beneke, R., and S. P. von Duvillard. “Determination of Maximal Lactate Steady State Response in Selected Sports Events.” *Medicine and Science in Sports and Exercise* 28, no. 2 (February 1996): 241–46.

Bermann, F. (2003) Bilan biologique des chevaux d’endurance. Congrès de l’AVEF, Montpellier, 30 octobre-1^{er} novembre 2003, 163-165.

Bernardi, L., D. Hayoz, R. Wenzel, C. Passino, A. Calciati, R. Weber, and G. Noll. “Synchronous and Baroreceptor-Sensitive Oscillations in Skin Microcirculation: Evidence for Central Autonomic Control.” *The American Journal of Physiology* 273, no. 4 Pt 2 (October 1997):

H1867–78.

- Berntson, G. G., J. T. Cacioppo, and K. S. Quigley. “Respiratory Sinus Arrhythmia: Autonomic Origins, Physiological Mechanisms, and Psychophysiological Implications.” *Psychophysiology* 30, no. 2 (March 1993): 183–96.
- Betros, C. L., K. H. McKeever, C. F. Kearns, and K. Malinowski. “Effects of Ageing and Training on Maximal Heart Rate and VO₂max.” *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 34 (September 2002): 100–105.
- Bigger, J. T., J. L. Fleiss, R. C. Steinman, L. M. Rolnitzky, W. J. Schneider, and P. K. Stein. “RR Variability in Healthy, Middle-Aged Persons Compared with Patients with Chronic Coronary Heart Disease or Recent Acute Myocardial Infarction.” *Circulation* 91, no. 7 (April 1, 1995): 1936–43.
- Billat, V. L., A. Demarle, J. Slawinski, M. Paiva, and J. P. Koralsztein. “Physical and Training Characteristics of Top-Class Marathon Runners.” *Medicine and Science in Sports and Exercise* 33, no. 12 (December 2001): 2089–97.
- Billat, V. L., B. Flechet, B. Petit, G. Muriaux, and J. P. Koralsztein. “Interval Training at VO₂max: Effects on Aerobic Performance and Overtraining Markers.” *Medicine and Science in Sports and Exercise* 31, no. 1 (January 1999): 156–63.
- Billat, V. L., R. H. Morton, N. Blondel, S. Berthoin, V. Bocquet, J. P. Koralsztein, and T. J. Barstow. “Oxygen Kinetics and Modelling of Time to Exhaustion Whilst Running at Various Velocities at Maximal Oxygen Uptake.” *European Journal of Applied Physiology* 82, no. 3 (June 2000): 178–87. doi:10.1007/s004210050670.
- Bitschnau, C., T. Wiestner, D. S. Trachsel, J. A. Auer, and M. A. Weishaupt. “Performance Parameters and Post Exercise Heart Rate Recovery in Warmblood Sports Horses of Different Performance Levels.” *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 38 (November 2010): 17–22. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00260.x.
- Borresen, J., and M. I. Lambert. “Autonomic Control of Heart Rate during and after Exercise : Measurements and Implications for Monitoring Training Status.” *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)* 38, no. 8 (2008): 633–46.
- Brennan, M., M. Palaniswami, and P. Kamen. “Do Existing Measures of Poincaré Plot Geometry Reflect Nonlinear Features of Heart Rate Variability?” *IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering* 48, no. 11 (November 2001): 1342–47. doi:10.1109/10.959330.
- Brown, H. V., K. Wasserman, and B. J. Whipp. “Effect of Beta-Adrenergic Blockade during Exercise on Ventilation and Gas Exchange.” *Journal of Applied Physiology* 41, no. 6 (December 1976): 886–92.
- Buchheit, M., C. Platat, M. Oujaa, and C. Simon. “Habitual Physical Activity, Physical Fitness and Heart Rate Variability in Preadolescents.” *International Journal of Sports Medicine* 28, no. 3 (March 2007): 204–10. doi:10.1055/s-2006-924296.
- Buffet, A. Pourcentage et nombre de chevaux classés dans les 5 premier par année et par race. <http://www.endurance-pedigrees.com/Races.aspx> .

- Buono, M. J., and N. T. Sjöholm. "Effect of Physical Training on Peripheral Sweat Production." *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 65, no. 2 (August 1988): 811–14.
- Carlson, G. P. "Atlanta 1996--Heat, Humidity and Horses." *The British Veterinary Journal* 150, no. 3 (June 1994): 211–13. doi:10.1016/S0007-1935(05)80001-6.
- Carter, H., A. M. Jones, and J. H. Doust. "Effect of 6 Weeks of Endurance Training on the Lactate Minimum Speed." *Journal of Sports Sciences* 17, no. 12 (December 1999): 957–67. doi:10.1080/026404199365353.
- Carter, J. B., E. W. Banister, and A. P. Blaber. "Effect of Endurance Exercise on Autonomic Control of Heart Rate." *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)* 33, no. 1 (2003): 33–46.
- Castejón, F., D. Rubio, P. Tovar, M. Vinuesa, and C. Riber. "A Comparative Study of Aerobic Capacity and Fitness in Three Different Horse Breeds (Andalusian, Arabian and Anglo-Arabian)." *Zentralblatt Für Veterinärmedizin. Reihe A* 41, no. 9 (November 1994): 645–52.
- Castejón-Riber, C., A. Muñoz, P. Trigo, C. Riber, R. Santisteban, and F. Castejón. "Comparative Ergoespirometric Adaptations to a Treadmill Exercise Test in Untrained Show Andalusian and Arabian Horses." *Veterinary Research Communications* 36, no. 1 (March 2012): 41–46. doi:10.1007/s11259-011-9510-x.
- Cavallaro, V., M. Petretta, S. Betocchi, C. Salvatore, G. Morgano, V. Bianchi, R. Breglio, and D. Bonaduce. "Effects of Sustained Training on Left Ventricular Structure and Function in Top Level Rowers." *European Heart Journal* 14, no. 7 (July 1993): 898–903.
- Clement, F., and E. Barrey. "Fluctuations de la fréquence cardiaque chez le cheval au repos. I: Investigation de la dynamique cardiaque par l'analyse spectrale." *Comptes rendus de l'Académie des sciences. Série 3, Sciences de la vie* 318, no. 8 (1995): 859–65.
- Cohen, M. A., and J. A. Taylor. "Short-Term Cardiovascular Oscillations in Man: Measuring and Modelling the Physiologies." *The Journal of Physiology* 542, no. Pt 3 (August 1, 2002): 669–83.
- Colahan, P.T., Mayhew, I.G., Merritt, A.M. (1999) Manual of equine medicine and surgery. Ed. Mosby, Saint-Louis, pp. 590.
- Costill, D. L., J. Daniels, W. Evans, W. Fink, G. Krahenbuhl, and B. Saltin. "Skeletal Muscle Enzymes and Fiber Composition in Male and Female Track Athletes." *Journal of Applied Physiology* 40, no. 2 (February 1976): 149–54.
- Cottin, F., C. Médigue, P. Lopes, E. Petit, Y. Papelier, and V. L. Billat. "Effect of Exercise Intensity and Repetition on Heart Rate Variability during Training in Elite Trotting Horse." *International Journal of Sports Medicine* 26, no. 10 (December 2005): 859–67. doi:10.1055/s-2005-837462.
- Cottin, F., E. Barrey, P. Lopes, and V. Billat. "Effect of Repeated Exercise and Recovery on Heart Rate Variability in Elite Trotting Horses during High Intensity Interval Training." *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 36 (August 2006): 204–9.
- Cottin, F., N. Metayer, A. G. Goachet, V. Julliand, J. Slawinski, V. Billat, and E. Barrey. "Oxygen Consumption and Gait Variables of Arabian Endurance Horses Measured during a Field

Exercise Test.” *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 38 (November 2010): 1–5.
doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00184.x.

Cottin, F., C. Médigue, and Y. Papelier. “Effect of Heavy Exercise on Spectral Baroreflex Sensitivity, Heart Rate, and Blood Pressure Variability in Well-Trained Humans.” *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 295, no. 3 (September 2008): H1150–55. doi:10.1152/ajpheart.00003.2008.

Cottin, F., F. Durbin, and Y. Papelier. “Heart Rate Variability during Cycloergometric Exercise or Judo Wrestling Eliciting the Same Heart Rate Level.” *European Journal of Applied Physiology* 91, no. 2–3 (March 2004): 177–84. doi:10.1007/s00421-003-0969-1.

Couroucé, A., M. Chrétien, and J. P. Valette. “Physiological Variables Measured under Field Conditions according to Age and State of Training in French Trotters.” *Equine Veterinary Journal* 34, no. 1 (January 2002): 91–97.

Couroucé, A., M. (2004) Médecine sportive : Le cheval performant et contre performant. Polycopié. Cours d’approfondissement en sciences cliniques des équidés, Dominante T1-PRO « Pathologie équine », 36p.

Couroucé, A., M. Médecine sportive. Polycopié. Ecoles Nationales Vétérinaires de Nantes, Toulouse et Maisons Alfort, 3ème cycle professionnel court dominante « Pathologie équine ». 2006-2007, 48p.

Davie, A, M Yao, Y Wang, L Huang, and S Zhou. “Comparison of Cumulative Effects of Four Days of Alternate or Continuous Training on Expression of Selected Mitochondrial Genes in Rat Skeletal Muscle.” *Equine Veterinary Journal* 46 (June 1, 2014): 6–6.
doi:10.1111/evj.12267_16.

De Meersman, R. E., and P. K. Stein. “Vagal Modulation and Aging.” *Biological Psychology* 74, no. 2 (February 2007): 165–73. doi:10.1016/j.biopsycho.2006.04.008.

Dimaio Knych, H. K., and S. D. Stanley. “Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Detomidine Following Sublingual Administration to Horses.” *American Journal of Veterinary Research* 72, no. 10 (October 2011): 1378–85. doi:10.2460/ajvr.72.10.1378.

Du, N., S. Bai, K. Oguri, Y. Kato, I. Matsumoto, H. Kawase, and T. Matsuoka. “Heart Rate Recovery after Exercise and Neural Regulation of Heart Rate Variability in 30-40 Year Old Female Marathon Runners.” *Journal of Sports Science & Medicine* 4, no. 1 (March 1, 2005): 9–17.

Eaton, M. D., D. R. Hodgson, D. L. Evans, and R. J. Rose. “Effects of Low- and Moderate-Intensity Training on Metabolic Responses to Exercise in Thoroughbreds.” *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 30 (July 1999): 521–27.

Eaton, M. D., R. J. Rose, D. L. Evans, and D. R. Hodgson. “Assessment of Anaerobic Capacity Using Maximal Accumulated Oxygen Deficit in Fit Thoroughbreds.” *Equine Veterinary Journal* 27, no. S18 (May 1, 1995): 29–32. doi:10.1111/j.2042-3306.1995.tb04885.x.

Eckberg, D. L. “Sympathovagal Balance: A Critical Appraisal. Reply.” *Circulation* 98, no. 23 (December 8, 1998): 2643–44.

- Efremov, K., D. Brisinda, A. Venuti, E. Iantorno, C. Cataldi, F. Fioravanti, and R. Fenici. "Heart Rate Variability Analysis during Head-up Tilt Test Predicts Nitroglycerine-Induced Syncope." *Open Heart* 1, no. 1 (2014): e000063. doi:10.1136/openhrt-2014-000063.
- Elfenbein, J. R., L. C. Sanchez, S. A. Robertson, C. A. Cole, and R. Sams. "Effect of Detomidine on Visceral and Somatic Nociception and Duodenal Motility in Conscious Adult Horses." *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 36, no. 2 (March 2009): 162–72. doi:10.1111/j.1467-2995.2008.00441.x.
- England, G. C., K. W. Clarke, and L. Goossens. "A Comparison of the Sedative Effects of Three Alpha 2-Adrenoceptor Agonists (romifidine, Detomidine and Xylazine) in the Horse." *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 15, no. 2 (June 1992): 194–201.
- Esfarjani, F., and P. B. Laursen. "Manipulating High-Intensity Interval Training: Effects on VO₂max, the Lactate Threshold and 3000 M Running Performance in Moderately Trained Males." *Journal of Science and Medicine in Sport / Sports Medicine Australia* 10, no. 1 (February 2007): 27–35. doi:10.1016/j.jsams.2006.05.014.
- Evans, D. L., and R. J. Rose. "Maximum Oxygen Uptake in Racehorses: Changes with Training State and Prediction from Submaximal Cardiorespiratory Measurements," 1987. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US8925768>.
- Feldman, J. "Principles of Sports Medicine for the Endurance and Eventing Horse." *Journal of Equine Veterinary Science* 14, no. 6 (June 1994): 331–32. doi:10.1016/S0737-0806(06)82072-1.
- Filipe, J. A., F. Falcão-Reis, J. Castro-Correia, and H. Barros. "Assessment of Autonomic Function in High Level Athletes by Pupillometry." *Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical* 104, no. 1 (February 28, 2003): 66–72.
- Filliau, C., M. Younes, A. L. Blanchard, J. Piscione, A. Van de Louw, C. Seguret, J. Israel, and F. Cottin. "Effect of 'Touch Rugby' Training on the Cardiovascular Autonomic Control In Sedentary Subjects." *International Journal of Sports Medicine*, March 17, 2015. doi:10.1055/s-0034-1398648.
- Finch, V. A., I. L. Bennett, and C. R. Holmes. "Coat Colour in Cattle: Effect on Thermal Balance, Behaviour and Growth, and Relationship with Coat Type." *The Journal of Agricultural Science* 102, no. 01 (February 1984): 141–47. doi:10.1017/S0021859600041575.
- Flaminio, M. J., and B. R. Rush. "Fluid and Electrolyte Balance in Endurance Horses." *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice* 14, no. 1 (April 1998): 147–58.
- Flaminio, M. J., E. M. Gaughan, and J. R. Gillespie. "Exercise Intolerance in Endurance Horses." *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice* 12, no. 3 (December 1996): 565–80.
- Fonseca, R. G., D. A. Kenny, E. W. Hill, and L. M. Katz. "The Association of Various Speed Indices to Training Responses in Thoroughbred Flat Racehorses Measured with a Global Positioning and Heart Rate Monitoring System." *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 38 (November 2010): 51–57. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00272.x.
- Foreman, J. H. "The Exhausted Horse Syndrome." *The Veterinary Clinics of North America*.

Equine Practice 14, no. 1 (April 1998): 205–19.

Fowler, M. E. “Veterinary Problems during Endurance Trail Rides.” *Journal of the South African Veterinary Association* 51, no. 2 (June 1980): 87–91.

Fraipont, A., E. Van Erck, E. Ramery, G. Fortier, P. Lekeux, and T. Art. “Assessing Fitness in Endurance Horses.” *The Canadian Veterinary Journal* 53, no. 3 (March 2012): 311–14.

Franch, J., K. Madsen, M. S. Djurhuus, and P. K. Pedersen. “Improved Running Economy Following Intensified Training Correlates with Reduced Ventilatory Demands.” *Medicine and Science in Sports and Exercise* 30, no. 8 (August 1998): 1250–56.

Freund, H., J. Lonsdorfer, S. Oyono-Enguélé, A. Lonsdorfer, and P. Bogui. “Lactate Exchange and Removal Abilities in Sickle Cell Patients and in Untrained and Trained Healthy Humans.” *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 73, no. 6 (December 1992): 2580–87.

Gaitanos, G. C., C. Williams, L. H. Boobis, and S. Brooks. “Human Muscle Metabolism during Intermittent Maximal Exercise.” *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 75, no. 2 (August 1993): 712–19.

Galletier, A. *Le Pur-Sang Arabe*, Evreux, Editions Atlas, 2011, 125p.

Gamelin, F. X., S. Berthoin, and L. Bosquet. “Validity of the Polar S810 Heart Rate Monitor to Measure R-R Intervals at Rest.” *Medicine and Science in Sports and Exercise* 38, no. 5 (May 2006): 887–93. doi:10.1249/01.mss.0000218135.79476.9c.

Geor, R. J., and L. J. McCutcheon. “Thermoregulatory Adaptations Associated with Training and Heat Acclimation.” *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice* 14, no. 1 (April 1998): 97–120.

Geor, R. J., L. J. McCutcheon, and M. I. Lindinger. “Adaptations to Daily Exercise in Hot and Humid Ambient Conditions in Trained Thoroughbred Horses.” *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 22 (July 1996): 63–68.

Giorgi, M., G. Soldani, C. Manera, P. Ferrarini, M. Sgorbini, and G. Saccomanni. “Pharmacokinetics of Tramadol and Its Metabolites M1, M2 and M5 in Horses Following Intravenous, Immediate Release (Fasted/Fed) and Sustained Release Single Dose Administration.” *Journal of Equine Veterinary Science* 27, no. 11 (November 2007): 481–88. doi:10.1016/j.jevs.2007.10.004.

Girard, A., B. Meilhac, C. Mounier-Vehier, and J. L. Elghozi. “Effects of Beta-Adrenergic Blockade on Short-Term Variability of Blood Pressure and Heart Rate in Essential Hypertension.” *Clinical and Experimental Hypertension (New York, N.Y.: 1993)* 17, no. 1–2 (February 1995): 15–27.

Goachet, A. G., P. Harris, C. Philippeau, and V. Julliand. “Effect of Physical Training on Nutrient Digestibility and Faecal Fermentative Parameters in Standardbred Horses.” *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 98, no. 6 (December 2014): 1081–87. doi:10.1111/jpn.12177. a

Goachet, A., A. Lories, E. Le Floch, and V. Julliand. “Energy Expenditure During a 160 Km Endurance Race.” *Equine Veterinary Journal* 46 (June 1, 2014): 32–32.

doi:10.1111/evj.12267_96. b

- Goldsmith, R. L., J. T. Bigger, D. M. Bloomfield, and R. C. Steinman. "Physical Fitness as a Determinant of Vagal Modulation." *Medicine and Science in Sports and Exercise* 29, no. 6 (June 1997): 812–17.
- Gómez, M. D., A. Menendez-Buxadera, M. Valera, and A. Molina. "Estimation of Genetic Parameters for Racing Speed at Different Distances in Young and Adult Spanish Trotter Horses Using the Random Regression Model." *Journal of Animal Breeding and Genetics = Zeitschrift Für Tierzucht Und Züchtungsbiologie* 127, no. 5 (October 2010): 385–94. doi:10.1111/j.1439-0388.2010.00865.x.
- Gondim, F. José, C. C. Zoppi, L. Pereira-da-Silva, and D. V. de Macedo. "Determination of the Anaerobic Threshold and Maximal Lactate Steady State Speed in Equines Using the Lactate Minimum Speed Protocol." *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology* 146, no. 3 (March 2007): 375–80. doi:10.1016/j.cbpa.2006.11.002.
- Green, H. J., J. R. Sutton, G. Coates, M. Ali, and S. Jones. "Response of Red Cell and Plasma Volume to Prolonged Training in Humans." *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 70, no. 4 (April 1991): 1810–15.
- Green, H. J., S. Jones, M. Ball-Burnett, B. Farrance, and D. Ranney. "Adaptations in Muscle Metabolism to Prolonged Voluntary Exercise and Training." *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 78, no. 1 (January 1995): 138–45.
- Hada, T., H. Ohmura, K. Mukai, D. Eto, T. Takahashi, and A. Hiraga. "Utilisation of the Time Constant Calculated from Heart Rate Recovery after Exercise for Evaluation of Autonomic Activity in Horses." *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 36 (August 2006): 141–45.
- Hansen, P. J. "Physiological and Cellular Adaptations of Zebu Cattle to Thermal Stress." *Animal Reproduction Science, Research and Practice III. 15th International Congress on Animal Reproduction*, 82–83 (July 2004): 349–60. doi:10.1016/j.anireprosci.2004.04.011.
- Harkins, JD., Hackett, R.P, Ducharme, N. G. "Effect of furosemide on physiologic variables in exercising horses". *Am J Vet Res.* 1993 Dec;54(12):2104-9.
- Hautala, A. J., T. H. Mäkikallio, A. Kiviniemi, R. T. Laukkanen, S. Nissilä, H. V. Huikuri, and M. P. Tulppo. "Cardiovascular Autonomic Function Correlates with the Response to Aerobic Training in Healthy Sedentary Subjects." *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 285, no. 4 (October 2003): H1747–52. doi:10.1152/ajpheart.00202.2003.
- Hautala, A., M. P. Tulppo, T. H. Mäkikallio, R. Laukkanen, S. Nissilä, and H. V. Huikuri. "Changes in Cardiac Autonomic Regulation after Prolonged Maximal Exercise." *Clinical Physiology (Oxford, England)* 21, no. 2 (March 2001): 238–45.
- Hickson, R. C., J. M. Hagberg, A. A. Ehsani, and J. O. Holloszy. "Time Course of the Adaptive Responses of Aerobic Power and Heart Rate to Training." *Medicine and Science in Sports and Exercise* 13, no. 1 (1981): 17–20.

- Hillman, P. E., Lee, C. N., & Parkhurst, A. (2001). Impact of hair color on thermoregulation of dairy cows to direct sunlight. In Annual International Meeting of the ASAE (Vol. 94, pp. 14-20).
- Hochscheid, S., D. Grémillet, S. Wanless, and M. A. du Plessis. "Black and White under the South African Sun: Are Juvenile Cape Gannets Heat Stressed?" *Journal of Thermal Biology* 27, no. 4 (August 2002): 325–32. doi:10.1016/S0306-4565(01)00097-3.
- Hood, D. M. "The Pathophysiology of Developmental and Acute Laminitis." *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice* 15, no. 2 (August 1999): 321–43.
- Hughson, R. L., L. Quintin, G. Annat, Y. Yamamoto, and C. Gharib. "Spontaneous Baroreflex by Sequence and Power Spectral Methods in Humans." *Clinical Physiology (Oxford, England)* 13, no. 6 (November 1993): 663–76.
- Huikuri, H. V., T. Seppänen, M. J. Koistinen, J. Airaksinen, M. J. Ikäheimo, A. Castellanos, and R. J. Myerburg. "Abnormalities in Beat-to-Beat Dynamics of Heart Rate before the Spontaneous Onset of Life-Threatening Ventricular Tachyarrhythmias in Patients with Prior Myocardial Infarction." *Circulation* 93, no. 10 (May 15, 1996): 1836–44.
- Ichinose, M., M. Saito, T. Ogawa, K. Hayashi, N. Kondo, and T. Nishiyasu. "Modulation of Control of Muscle Sympathetic Nerve Activity during Orthostatic Stress in Humans." *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 287, no. 5 (November 2004): H2147–53. doi:10.1152/ajpheart.00215.2004.
- Ingelsson, E., M. G. Larson, R. S. Vasan, C. J. O'Donnell, X. Yin, J. N. Hirschhorn, C. Newton-Cheh, et al. "Heritability, Linkage, and Genetic Associations of Exercise Treadmill Test Responses." *Circulation* 115, no. 23 (June 12, 2007): 2917–24. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.106.683821.
- Ivy, J. L., R. T. Withers, P. J. Van Handel, D. H. Elger, and D. L. Costill. "Muscle Respiratory Capacity and Fiber Type as Determinants of the Lactate Threshold." *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology* 48, no. 3 (March 1980): 523–27.
- Javorka, M., I. Zila, T. Balhárek, and K. Javorka. "Heart Rate Recovery after Exercise: Relations to Heart Rate Variability and Complexity." *Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira De Pesquisas Médicas E Biológicas / Sociedade Brasileira De Biofísica ... [et Al.]* 35, no. 8 (August 2002): 991–1000.
- Jokkel, G., I. Bonyhay, and M. Kollai. "Heart Rate Variability after Complete Autonomic Blockade in Man." *Journal of the Autonomic Nervous System* 51, no. 1 (January 20, 1995): 85–89.
- Jones, A. M., and J. H. Doust. "The Validity of the Lactate Minimum Test for Determination of the Maximal Lactate Steady State." *Medicine and Science in Sports and Exercise* 30, no. 8 (August 1998): 1304–13.
- Jones, A. M., H. Carter, and J. H. Doust. "Effect of Six Weeks of Endurance Training on Parameters of Aerobic Fitness." *Medicine & Science in Sports & Exercise* 31, no. 5 (1999): S280.
- Kamath, M. V., A. R. Upton, A. Talalla, and E. L. Fallen. "Effect of Vagal Nerve

Electrostimulation on the Power Spectrum of Heart Rate Variability in Man.” *Pacing and Clinical Electrophysiology: PACE* 15, no. 2 (February 1992): 235–43.

- Kearns, C. F., K. H. McKeever, H. John-Alder, T. Abe, and W. F. Brechue. “Relationship between Body Composition, Blood Volume and Maximal Oxygen Uptake.” *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 34 (September 2002): 485–90.
- Keselbrenner, L., and S. Akselrod. “Selective Discrete Fourier Transform Algorithm for Time-Frequency Analysis: Method and Application on Simulated and Cardiovascular Signals.” *IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering* 43, no. 8 (August 1996): 789–802. doi:10.1109/10.508542.
- Khosravi, M., S. M. Tayebi, and H. Safari. “Single and Concurrent Effects of Endurance and Resistance Training on Pulmonary Function.” *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 16, no. 4 (April 2013): 628–34.
- Kiens, B., B. Essen-Gustavsson, N. J. Christensen, and B. Saltin. “Skeletal Muscle Substrate Utilization during Submaximal Exercise in Man: Effect of Endurance Training.” *The Journal of Physiology* 469 (September 1993): 459–78.
- Kinnunen, S., R. Laukkanen, J. Haldi, O. Hanninen, and M. Atalay. “Heart Rate Variability in Trotters during Different Training Periods.” *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 36 (August 2006): 214–17.
- Kitaoka, Yu, H. Masuda, K. Mukai, A. Hiraga, T. Takemasa, and H. Hatta. “Effect of Training and Detraining on Monocarboxylate Transporter (MCT) 1 and MCT4 in Thoroughbred Horses.” *Experimental Physiology* 96, no. 3 (March 1, 2011): 348–55. doi:10.1113/expphysiol.2010.055483.
- Kobayashi, M., K. Kuribara, and A. Amada. “Application of V200 Values for Evaluation of Training Effects in the Young Thoroughbred under Field Conditions.” *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 30 (July 1999): 159–62.
- Kuwahara, M., A. Hiraga, M. Kai, H. Tsubone, and S. Sugano. “Influence of Training on Autonomic Nervous Function in Horses: Evaluation by Power Spectral Analysis of Heart Rate Variability.” *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 30 (July 1999): 178–80.
- Kuwahara, M., S. Hashimoto, K. Ishii, Y. Yagi, T. Hada, A. Hiraga, M. Kai, et al. “Assessment of Autonomic Nervous Function by Power Spectral Analysis of Heart Rate Variability in the Horse.” *Journal of the Autonomic Nervous System* 60, no. 1–2 (August 27, 1996): 43–48.
- Lacour J.R (1992). Aspect énergétique du métabolisme anaérobie. Biologie de l'exercice musculaire, Masson, Paris, 23-55.
- Lagarde, J., J. a. S. Kelso, C. Peham, and T. Licka. “Coordination Dynamics of the Horse-Rider System.” *Journal of Motor Behavior* 37, no. 6 (November 2005): 418–24. doi:10.3200/JMBR.37.6.418-424.
- Langlois, B. “Inter-Breed Variation in the Horse with Regard to Cold Adaptation: A Review.” *Livestock Production Science* 40, no. 1 (September 1994): 1–7.
- Langlois, B., C. Blouin, and A. Tavernier. “Nouveaux Résultats D’estimation de L’héritabilité Des

Gains En Course Des Pur-Sang En France.” *Genetics Selection Evolution* 28, no. 3 (1996): 275–83. doi:10.1051/gse:19960305.

Lawrence, L., S. Jackson, K. Kline, L. Moser, D. Powell, and M. Biel. “Observations on Body Weight and Condition of Horses in a 150-Mile Endurance Ride.” *Journal of Equine Veterinary Science* 12, no. 5 (September 1992): 320–24. doi:10.1016/S0737-0806(06)81345-6.

Leclerc, JL, La préparation du cheval d’endurance : principes élémentaires, *Prat. Vét.Eq.*, 1998, 30(118), 15-17.

Leclerc, JL, Notions d’entraînement du cheval d’Endurance. In : *EPU Vétérinaire d’Endurance*, ENVA, 25 janvier 2007, 43-45.

Lekeux, P., and T. Art. “The Respiratory System: Anatomy, Physiology, and Adaptations to Exercise and Training.” *The Athletic Horse: Principles and Practice of Equine Sports Medicine*, 1994, 79–127.

Leleu, C., C. Cotrel, and A. Courouge-Malblanc. “Relationships between Physiological Variables and Race Performance in French Standardbred Trotters.” *The Veterinary Record* 156, no. 11 (March 12, 2005): 339–42.

Le Moyec, L., R. Céline, M. N. Triba, V. L. Billat, X. Mata, L. Schibler, and E. Barrey. “Protein Catabolism and High Lipid Metabolism Associated with Long-Distance Exercise Are Revealed by Plasma NMR Metabolomics in Endurance Horses.” *PloS One* 9, no. 3 (2014): e90730. doi:10.1371/journal.pone.0090730.

Leprêtre, P. M., N. Metayer, G. Giovagnoli, E. Pagliei, and E. Barrey. “Comparison of Analyses of Respiratory Gases Made with the K4b2 Portable and Quark Laboratory Analysers in Horses.” *The Veterinary Record* 165, no. 1 (July 4, 2009): 22–25.

Levy, W. C., M. D. Cerqueira, G. D. Harp, K. A. Johannessen, I. B. Abrass, R. S. Schwartz, and J. R. Stratton. “Effect of Endurance Exercise Training on Heart Rate Variability at Rest in Healthy Young and Older Men.” *The American Journal of Cardiology* 82, no. 10 (November 15, 1998): 1236–41.

Li, G., P. Lee, N. Mori, I. Yamamoto, and T. Arai. “Long Term Intensive Exercise Training Leads to a Higher Plasma Malate/lactate Dehydrogenase (M/L) Ratio and Increased Level of Lipid Mobilization in Horses.” *Veterinary Research Communications* 36, no. 2 (June 2012): 149–55. doi:10.1007/s11259-012-9515-0.

Lindner, A. E. “Maximal Lactate Steady State during Exercise in Blood of Horses.” *Journal of Animal Science* 88, no. 6 (June 2010): 2038–44. doi:10.2527/jas.2009-2693.

Lindner, A., H. Mosen, S. Kissenbeck, H. Fuhrmann, and H. P. Sallmann. “Effect of Blood Lactate-Guided Conditioning of Horses with Exercises of Differing Durations and Intensities on Heart Rate and Biochemical Blood Variables.” *Journal of Animal Science* 87, no. 10 (October 2009): 3211–17. doi:10.2527/jas.2009-2001.

Lossius, K., M. Eriksen, and L. Walloe. “Fluctuations in Blood Flow to Acral Skin in Humans: Connection with Heart Rate and Blood Pressure Variability.” *The Journal of Physiology* 460 (January 1993): 641–55.

- Madsen, M., J. Kanters, and R. Buhl. "Heart Rate Recovery Time in Exercise Testing of Endurance Horses." *Equine Veterinary Journal* 46 (June 1, 2014): 7–7. doi:10.1111/evj.12267_19.
- Malliani, A., and N. Montano. "Heart Rate Variability as a Clinical Tool." *Italian Heart Journal: Official Journal of the Italian Federation of Cardiology* 3, no. 8 (August 2002): 439–45.
- Mama, K. R., K. Grimsrud, T. Snell, and S. Stanley. "Plasma Concentrations, Behavioural and Physiological Effects Following Intravenous and Intramuscular Detomidine in Horses." *Equine Veterinary Journal* 41, no. 8 (November 2009): 772–77.
- Mandigout, S., A. Melin, L. Fauchier, L. D. N’Guyen, D. Courteix, and P. Obert. "Physical Training Increases Heart Rate Variability in Healthy Prepubertal Children." *European Journal of Clinical Investigation* 32, no. 7 (July 2002): 479–87.
- Marlin, D. J., R. C. Schroter, S. L. White, P. Maykuth, G. Matthesen, P. C. Mills, N. Waran, and P. Harris. "Recovery from Transport and Acclimatisation of Competition Horses in a Hot Humid Environment." *Equine Veterinary Journal* 33, no. 4 (July 2001): 371–79.
- Marqués, F. J., C. Waldner, S. Reed, F. Autet, L. Corbeil, and J. Campbell. "Effect of Rider Experience and Evaluator Expertise on Subjective Grading of Lameness in Sound and Unsound Sports Horses under Saddle." *Canadian Journal of Veterinary Research = Revue Canadienne De Recherche Vétérinaire* 78, no. 2 (April 2014): 89–96.
- Marsland, W. P. "Heart Rate Response to Submaximal Exercise in the Standardbred Horse." *Journal of Applied Physiology* 24, no. 1 (January 1968): 98–101.
- Martin, W. H., G. P. Dalsky, B. F. Hurley, D. E. Matthews, D. M. Bier, J. M. Hagberg, M. A. Rogers, D. S. King, and J. O. Holloszy. "Effect of Endurance Training on Plasma Free Fatty Acid Turnover and Oxidation during Exercise." *The American Journal of Physiology* 265, no. 5 Pt 1 (November 1993): E708–14.
- McCloskey, M. J., and E. K. Potter. "Sympathetic and Parasympathetic Interaction in Vascular and Secretory Control of Salivary Glands in Anaesthetised Dogs." *Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical* 84, no. 1–2 (October 30, 2000): 50–57. doi:10.1016/S1566-0702(00)00181-8.
- McCutcheon, L. J., and R. J. Geor. "Effects of Short-Term Training on Thermoregulatory and Sweat Responses during Exercise in Hot Conditions." *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 38 (November 2010): 135–41. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00235.x.
- McDonough, P., C. A. Kindig, T. S. Hildreth, B. J. Behnke, H. H. Erickson, and D. C. Poole. "Effect of Body Incline on Cardiac Performance." *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 34 (September 2002): 506–9.
- McKeever, K. H., T. L. Eaton, S. Geiser, C. F. Kearns, and R. A. Lehnhard. "Age Related Decreases in Thermoregulation and Cardiovascular Function in Horses." *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 38 (November 2010): 220–27. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00259.x.
- McMiken, D. F. "An Energetic Basis of Equine Performance." *Equine Veterinary Journal* 15, no. 2 (April 1983): 123–33.

- Miranda, M. C. P. C., A. Queiroz-Neto, J. R. Silva-Júnior, M. C. Pereira, O. a. B. Soares, R. T. Borghi, and G. C. Ferraz. "Comparison of the Lactate Minimum Speed and the Maximal Lactate Steady State to Determine Aerobic Capacity in Purebred Arabian Horses." *New Zealand Veterinary Journal* 62, no. 1 (January 2014): 15–20. doi:10.1080/00480169.2013.815103.
- Mirian, M., M. Piffer, P. Bogossian, and W. Fernandes. "Effects of Aerobic Training on Systolic, Diastolic and Mean Blood Pressure in Arabian Horses." *Equine Veterinary Journal* 46 (June 1, 2014): 24–24. doi:10.1111/evj.12267_73.
- Montano, N., C. Cogliati, A. Porta, M. Pagani, A. Malliani, K. Narkiewicz, F. M. Abboud, C. Birkett, and V. K. Somers. "Central Vagotonic Effects of Atropine Modulate Spectral Oscillations of Sympathetic Nerve Activity." *Circulation* 98, no. 14 (October 6, 1998): 1394–99.
- Moritani, T., T. Takaishi, and T. Matsumoto. "Determination of Maximal Power Output at Neuromuscular Fatigue Threshold." *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 74, no. 4 (April 1993): 1729–34.
- Morris, E. "Application of Clinical Exercise Testing for Identification of Respiratory Fitness and Disease in the Equine Athlete." *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice* 7, no. 2 (August 1991): 383–401.
- Mourot, L., M. Bouhaddi, S. Perrey, S. Cappelle, M. T. Henriët, J. P. Wolf, J. D. Rouillon, and J. Regnard. "Decrease in Heart Rate Variability with Overtraining: Assessment by the Poincaré Plot Analysis." *Clinical Physiology and Functional Imaging* 24, no. 1 (January 2004): 10–18.
- Mukai, K., H. Ohmura, A. Hiraga, D. Eto, T. Takahashi, Y. Asai, and J. H. Jones. "Effect of Detraining on Cardiorespiratory Variables in Young Thoroughbred Horses." *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 36 (August 2006): 210–13.
- Munsters, C., J. W. de Gooijer, J. van den Broek, and M. M. Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan. "Heart Rate, Heart Rate Variability and Behaviour of Horses during Air Transport." *The Veterinary Record* 172, no. 1 (January 5, 2013): 15. doi:10.1136/vr.100952.
- Munsters, C., J. van den Broek, R. van Weeren, and M. Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan. "Young Friesian Horses Show Familial Aggregation in Fitness Response to a 7-Week Performance Test." *Equine Veterinary Journal* 46 (June 1, 2014): 8–8. doi:10.1111/evj.12267_23. (a).
- Munsters, C., A. van Iwaarden, R. van Weeren, and M. Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan. "Exercise Testing in Warmblood Sport Horses under Field Conditions." *The Veterinary Journal*. Accessed September 30, 2014. doi:10.1016/j.tvjl.2014.07.019. (b).
- Nagy, A., J. K. Murray, and S. Dyson. "Elimination from Elite Endurance Rides in Nine Countries: A Preliminary Study." *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 38 (November 2010): 637–43. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00220.x.
- Nagy, A., J. K. Murray, and S. J. Dyson. "Horse-, Rider-, Venue- and Environment-Related Risk Factors for Elimination from Fédération Equestre Internationale Endurance Rides due to Lameness and Metabolic Reasons." *Equine Veterinary Journal* 46, no. 3 (May 2014): 294–

99. doi:10.1111/evj.12170.

- Naylor, J. R., W. M. Bayly, P. D. Gollnick, G. L. Brengelmann, and D. R. Hodgson. "Effects of Dehydration on Thermoregulatory Responses of Horses during Low-Intensity Exercise." *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 75, no. 2 (August 1993): 994–1001.
- Oel, C., H. Gerhards, and H. Gehlen. "Effect of Retrobulbar Nerve Block on Heart Rate Variability during Enucleation in Horses under General Anesthesia." *Veterinary Ophthalmology* 17, no. 3 (May 2014): 170–74. doi:10.1111/vop.12061.
- Ohmura, H., A. Hiraga, H. Aida, M. Kuwahara, and H. Tsubone. "Effects of Repeated Atropine Injection on Heart Rate Variability in Thoroughbred Horses." *The Journal of Veterinary Medical Science / the Japanese Society of Veterinary Science* 63, no. 12 (December 2001): 1359–60.
- Ohmura, H., K. Mukai, T. Takahashi, A. Matsui, A. Hiraga, and J. H. Jones. "Comparison of Net Anaerobic Energy Utilisation Estimated by Plasma Lactate Accumulation Rate and Accumulated Oxygen Deficit in Thoroughbred Horses." *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 38 (November 2010): 62–69. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00261.x.
- Ohmura, H., A. Hiraga, H. Aida, M. Kuwahara, H. Tsubone, and J. H. Jones. "Changes in Heart Rate and Heart Rate Variability in Thoroughbreds during Prolonged Road Transportation." *American Journal of Veterinary Research* 67, no. 3 (March 2006): 455–62. doi:10.2460/ajvr.67.3.455.
- Ohmura, H., P. L. Boscan, A. M. Solano, S. D. Stanley, and J. H. Jones. "Changes in Heart Rate, Heart Rate Variability, and Atrioventricular Block during Withholding of Food in Thoroughbreds." *American Journal of Veterinary Research* 73, no. 4 (April 2012): 508–14. doi:10.2460/ajvr.73.4.508. (a)
- Ohmura, H., S. Hobo, A. Hiraga, and J. H. Jones. "Changes in Heart Rate and Heart Rate Variability during Transportation of Horses by Road and Air." *American Journal of Veterinary Research* 73, no. 4 (April 2012): 515–21. doi:10.2460/ajvr.73.4.515. (b)
- Oldham, S. L., G. D. Potter, J. W. Evans, S. B. Smith, T. S. Taylor, and W. S. Barnes. "Storage and Mobilization of Muscle Glycogen in Exercising Horses Fed a Fat-Supplemented Diet." *Journal of Equine Veterinary Science* 10, no. 5 (September 1990): 353–59. doi:10.1016/S0737-0806(06)80096-1.
- Osborne, G., L. A. Wolfe, G. W. Burggraf, and R. Norman. "Relationships between Cardiac Dimensions, Anthropometric Characteristics and Maximal Aerobic Power (VO₂max) in Young Men." *International Journal of Sports Medicine* 13, no. 3 (April 1992): 219–24. doi:10.1055/s-2007-1021257.
- Pagani, M., N. Montano, A. Porta, A. Malliani, F. M. Abboud, C. Birkett, and V. K. Somers. "Relationship between Spectral Components of Cardiovascular Variabilities and Direct Measures of Muscle Sympathetic Nerve Activity in Humans." *Circulation* 95, no. 6 (March 18, 1997): 1441–48.
- Pearson, A. A., T. E. Gaffney, T. Walle, and P. J. Privitera. "A Stereoselective Central Hypotensive Action of Atenolol." *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 250, no. 3 (September 1989): 759–63.

- Peham, C., T. Licka, H. Schobesberger, and E. Meschan. "Influence of the Rider on the Variability of the Equine Gait." *Human Movement Science* 23, no. 5 (November 2004): 663–71. doi:10.1016/j.humov.2004.10.006.
- Peham, C., T. Licka, M. Kapaun, and M. Scheidl. "A New Method to Quantify Harmony of the Horse–rider System in Dressage." *Sports Engineering* 4, no. 2 (May 1, 2001): 95–101. doi:10.1046/j.1460-2687.2001.00077.x.
- Physick-Sheard, P. W., D. J. Marlin, R. Thornhill, and R. C. Schroter. "Frequency Domain Analysis of Heart Rate Variability in Horses at Rest and during Exercise." *Equine Veterinary Journal* 32, no. 3 (May 2000): 253–62.
- Pichon, A. P., C. de Bisschop, M. Roulaud, A. Denjean, and Y. Papelier. "Spectral Analysis of Heart Rate Variability during Exercise in Trained Subjects." *Medicine and Science in Sports and Exercise* 36, no. 10 (October 2004): 1702–8.
- Pichot, V., J. M. Gaspoz, S. Molliex, A. Antoniadis, T. Busso, F. Roche, F. Costes, L. Quintin, J. R. Lacour, and J. C. Barthélémy. "Wavelet Transform to Quantify Heart Rate Variability and to Assess Its Instantaneous Changes." *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 86, no. 3 (March 1999): 1081–91.
- Prince, A., R. Geor, P. Harris, K. Hoekstra, S. Gardner, C. Hudson, and J. Pagan. "Comparison of the Metabolic Responses of Trained Arabians and Thoroughbreds during High- and Low-Intensity Exercise." *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 34 (September 2002): 95–99.
- Raczak, G., L. Daniłowicz-Szymanowicz, M. Kobuszewska-Chwirot, W. Ratkowski, M. Figura-Chmielewska, and M. Szwoch. "Long-Term Exercise Training Improves Autonomic Nervous System Profile in Professional Runners." *Kardiologia Polska* 64, no. 2 (February 2006): 135–40; discussion 141–42.
- Ratzlaff, M. H., M. L. Hyde, D. V. Hutton, R. A. Rathgeber, and Olin K. Balch. "Interrelationships between Moisture Content of the Track, Dynamic Properties of the Track and the Locomotor Forces Exerted by Galloping Horses." *Journal of Equine Veterinary Science* 17, no. 1 (1997): 35–42.
- Rea, R. F., and D. L. Eckberg. "Carotid Baroreceptor-Muscle Sympathetic Relation in Humans." *The American Journal of Physiology* 253, no. 6 Pt 2 (December 1987): R929–34.
- Ricard, A. "Donnees Nouvelles Sur Les Performances Des Chevaux de Sport: Precocite, Effets Maternels, Influence Du Type Genetique." 1986. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=FR19870086747>.
- Ricard, A., and M. Touvais. "Genetic Parameters of Performance Traits in Horse Endurance Races." *Livestock Science* 110, no. 1–2 (June 2007): 118–25. doi:10.1016/j.livsci.2006.10.008.
- Rivero, J. L., A. L. Serrano, A. M. Diz, and A. M. Galisteo. "Variability of Muscle Fibre Composition and Fibre Size in the Horse Gluteus Medius: An Enzyme-Histochemical and Morphometric Study." *Journal of Anatomy* 181 (Pt 1) (August 1992): 1–10.
- Rivero, J. L., A. L. Serrano, E. Quiroz-Rothe, and E. Aguilera-Tejero. "Coordinated Changes of

- Kinematics and Muscle Fibre Properties with Prolonged Endurance Training.” *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 33 (April 2001): 104–8.
- Rivero, J. L., A. L. Serrano, P. Henckel, and E. Agüera. “Muscle Fiber Type Composition and Fiber Size in Successfully and Unsuccessfully Endurance-Raced Horses.” *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 75, no. 4 (October 1993): 1758–66.
- Rivero, J. L., A. Ruz, S. Marti-Korfft, and A. Lindner. “Contribution of Exercise Intensity and Duration to Training-Linked Myosin Transitions in Thoroughbreds.” *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 36 (August 2006): 311–15.
- Rivero, J. L., J. L. Morales-Lopez, A. M. Galisteo, and E. Aguera. “Muscle Fibre Type Composition in Untrained and Endurance-Trained Andalusian and Arab Horses.” *Equine Veterinary Journal* 23, no. 2 (March 1991): 91–93.
- Rivero, J. L., A. Ruz, S. Martí-Korff, J. C. Estepa, E. Aguilera-Tejero, J. Werkman, M. Sobotta, and A. Lindner. “Effects of Intensity and Duration of Exercise on Muscular Responses to Training of Thoroughbred Racehorses.” *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 102, no. 5 (May 2007): 1871–82. doi:10.1152/jappphysiol.01093.2006.
- Robert, C, E Barrey, and T Patrice. “Effect of A 90-Km Endurance Race on Resistance to Oxidation and Inflammation Levels in 6-Year Old Horses.” *Equine Veterinary Journal* 46 (June 1, 2014): 19–19. doi:10.1111/evj.12267_56.
- Robert, C., M. Younes, B. Borgetto, and E. Barrey. “Standardized Exercise Test in Young Endurance Horses.” *Equine Veterinary Journal* 46 (June 1, 2014): 13–13. doi:10.1111/evj.12267_39.
- Robert, C. (2003) Facteurs de risque et développement de troubles métaboliques chez le cheval en course d’endurance. Congrès de l’AVEF, Montpellier, 30 octobre-1^{er} novembre 2003, 197-198.
- Robert, C., A. Benamou-Smith, and J. L. Leclerc. “Use of the Recovery Check in Long-Distance Endurance Rides.” *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 34 (September 2002): 106–11.
- Robert, C., A. G. Goachet, A. Fraipont, D.-M. Votion, E. Van Erck, and J.-L. Leclerc. “Hydration and Electrolyte Balance in Horses during an Endurance Season.” *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 38 (November 2010): 98–104. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00198.x.
- Robin, D., H. Chateau, L. Pacquet, S. Falala, J. P. Valette, P. Pourcelot, B. Ravary, J. M. Denoix, and N. Crevier-Denoix. “Use of a 3D Dynamometric Horseshoe to Assess the Effects of an All-Weather Waxed Track and a Crushed Sand Track at High Speed Trot: Preliminary Study.” *Equine Veterinary Journal* 41, no. 3 (March 2009): 253–56.
- Rodas, G., J. L. Ventura, J. A. Cadefau, R. Cussó, and J. Parra. “A Short Training Programme for the Rapid Improvement of Both Aerobic and Anaerobic Metabolism.” *European Journal of Applied Physiology* 82, no. 5–6 (August 2000): 480–86. doi:10.1007/s004210000223.
- Rose, R. J. “Endurance Exercise in the Horse--a Review. Part I.” *The British Veterinary Journal* 142, no. 6 (December 1986): 532–41. doi:10.1016/0007-1935(86)90111-9.

- Rose, R. J. "Endurance Exercise in the Horse--a Review. Part II." *The British Veterinary Journal* 142, no. 6 (December 1986): 542–52. doi:10.1016/0007-1935(86)90112-0.
- Rose, R. J., D. R. Hodgson, W. M. Bayly, and P. D. Gollnick. "Kinetics of VO₂ and VCO₂ in the Horse and Comparison of Five Methods for Determination of Maximum Oxygen Uptake." *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 9 (June 1990): 39–42.
- Rosenkilde, M., M. H. Reichkender, P. Auerbach, T. C. Bonne, A. Sjödin, T. Ploug, and B. M. Stallknecht. "Changes in Peak Fat Oxidation in Response to Different Doses of Endurance Training." *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, December 18, 2013. doi:10.1111/sms.12151.
- Rosenwinkel, E. T., D. M. Bloomfield, M. A. Arwady, and R. L. Goldsmith. "Exercise and Autonomic Function in Health and Cardiovascular Disease." *Cardiology Clinics* 19, no. 3 (August 2001): 369–87.
- Sahlin, K. "Metabolic Factors in Fatigue." *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)* 13, no. 2 (February 1992): 99–107.
- Saltin, B., and P. O. Astrand. "Maximal Oxygen Uptake in Athletes." *Journal of Applied Physiology* 23, no. 3 (September 1967): 353–58.
- Schmidt, A., S. Biau, E. Möstl, M. Becker-Birck, B. Morillon, J. Aurich, J.-M. Faure, and C. Aurich. "Changes in Cortisol Release and Heart Rate Variability in Sport Horses during Long-Distance Road Transport." *Domestic Animal Endocrinology* 38, no. 3 (April 2010): 179–89. doi:10.1016/j.domaniend.2009.10.002. (a).
- Schmidt, A., S. Hödl, E. Möstl, J. Aurich, J. Müller, and C. Aurich. "Cortisol Release, Heart Rate, and Heart Rate Variability in Transport-Naive Horses during Repeated Road Transport." *Domestic Animal Endocrinology* 39, no. 3 (October 2010): 205–13. doi:10.1016/j.domaniend.2010.06.002. (b).
- Schmidt, A., J. Aurich, E. Möstl, J. Müller, and C. Aurich. "Changes in Cortisol Release and Heart Rate and Heart Rate Variability during the Initial Training of 3-Year-Old Sport Horses." *Hormones and Behavior* 58, no. 4 (September 2010): 628–36. doi:10.1016/j.yhbeh.2010.06.011. (c).
- Seeherman, H. J., and E. A. Morris. "Comparison of Yearling, Two-Year-Old and Adult Thoroughbreds Using a Standardised Exercise Test." *Equine Veterinary Journal* 23, no. 3 (May 1991): 175–84.
- Setterbo, J. J., T. C. Garcia, I. P. Campbell, J. L. Reese, J. M. Morgan, Sun Y. Kim, M. Hubbard, and S. M. Stover. "Hoof Accelerations and Ground Reaction Forces of Thoroughbred Racehorses Measured on Dirt, Synthetic, and Turf Track Surfaces." *American Journal of Veterinary Research* 70, no. 10 (October 2009): 1220–29. doi:10.2460/ajvr.70.10.1220.
- Setty, A. B., B. V. Vaughn, S. R. Quint, K. R. Robertson, and J. A. Messenheimer. "Heart Period Variability during Vagal Nerve Stimulation." *Seizure* 7, no. 3 (June 1998): 213–17.
- Shimoda, O., T. Kano, M. Awata, K. Esaki, R. Tsutsumi, and M. Yasumoto. "[Sympathetic skin response as an objective indicator of sympathetic activity]." *Masui. The Japanese Journal of Anesthesiology* 38, no. 1 (January 1989): 27–32.

- Silvetti, M. S., F. Drago, and P. Ragonese. "Heart Rate Variability in Healthy Children and Adolescents Is Partially Related to Age and Gender." *International Journal of Cardiology* 81, no. 2–3 (December 2001): 169–74.
- Sjödin, B., and I. Jacobs. "Onset of Blood Lactate Accumulation and Marathon Running Performance." *International Journal of Sports Medicine* 2, no. 1 (February 1981): 23–26. doi:10.1055/s-2008-1034579.
- Skyschally, A., H. W. Breuer, and G. Heusch. "The Analysis of Heart Rate Variability Does Not Provide a Reliable Measurement of Cardiac Sympathetic Activity." *Clinical Science (London, England: 1979)* 91 Suppl (1996): 102–4.
- Sleeper, M. M., M. M. Durando, T. C. Holbrook, M. E. Payton, and E. K. Birks. "Comparison of Echocardiographic Measurements in Elite and Nonelite Arabian Endurance Horses." *American Journal of Veterinary Research* 75, no. 10 (October 2014): 893–98. doi:10.2460/ajvr.75.10.893.
- Smarsh, D, and C Williams. "Effects of Age and Exercise Training on Oxidation of Skeletal Muscle and Blood in Mature and Yearling Horses." *Equine Veterinary Journal* 46 (June 1, 2014): 10–10. doi:10.1111/evj.12267_30.
- Smith, C. A. "Electrolyte Imbalances and Metabolic Disturbances in Endurance Horses." *The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian (USA)*, 1985. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US8640944>.
- Smith, T. P., J. S. Coombes, and D. P. Geraghty. "Optimising High-Intensity Treadmill Training Using the Running Speed at Maximal O₂ Uptake and the Time for Which This Can Be Maintained." *European Journal of Applied Physiology* 89, no. 3–4 (May 2003): 337–43. doi:10.1007/s00421-003-0806-6.
- Souza Neto, E. P., J. Neidecker, and J. J. Lehot. "[To understand blood pressure and heart rate variability]." *Annales Françaises D'anesthésie Et De Réanimation* 22, no. 5 (May 2003): 425–52.
- SHF. Société Hippique Française. <http://www.shf.eu/reglement-2015-reglement-organisation-116.html?tags=8> .
- Spataro, A., G. La Mura, G. Marcello, A. Alabiso, D. Naccari, and A. Pelliccia. "The Electrocardiographic T Wave Changes in Highly Trained Athletes during Training. An Old Problem Revisited." *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness* 38, no. 2 (June 1998): 164–68.
- Spina, R. J. "Cardiovascular Adaptations to Endurance Exercise Training in Older Men and Women." *Exercise and Sport Sciences Reviews* 27 (1999): 317–32.
- Spooner, H. S., B. D. Nielsen, H. C. Schott, and P. A. Harris. "Sweat Composition in Arabian Horses Performing Endurance Exercise on Forage-Based, Low Na Rations." *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 38 (November 2010): 382–86. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00208.x.
- Stachurska, A., M. Pięta, J. Łojek, and J. Szulowska. "Performance in Racehorses of Various Colours." *Livestock Science* 106, no. 2–3 (February 2007): 282–86.

doi:10.1016/j.livsci.2006.07.017.

- Stefánsdóttir, G. J., S. Ragnarsson, V. Gunnarsson, and A. Jansson. "Physiological Response to a Breed Evaluation Field Test in Icelandic Horses." *Animal: An International Journal of Animal Bioscience* 8, no. 3 (March 2014): 431–39. doi:10.1017/S1751731113002309.
- Suontama, M., J. H. J. van der Werf, J. Juga, and M. Ojala. "Genetic Parameters for Racing Records in Trotters Using Linear and Generalized Linear Models." *Journal of Animal Science* 90, no. 9 (September 2012): 2921–30. doi:10.2527/jas.2011-4526.
- Suter, E., H. Hoppeler, H. Claassen, R. Billeter, U. Aebi, F. Horber, P. Jaeger, and B. Marti. "Ultrastructural Modification of Human Skeletal Muscle Tissue with 6-Month Moderate-Intensity Exercise Training." *International Journal of Sports Medicine* 16, no. 3 (April 1995): 160–66. doi:10.1055/s-2007-972985.
- Sztajzel, J., M. Jung, K. Sievert, and A. Bayes De Luna. "Cardiac Autonomic Profile in Different Sports Disciplines during All-Day Activity." *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness* 48, no. 4 (December 2008): 495–501.
- Tanner, J. C., C. W. Rogers, and E. C. Firth. "The Association of 2-Year-Old Training Milestones with Career Length and Racing Success in a Sample of Thoroughbred Horses in New Zealand." *Equine Veterinary Journal* 45, no. 1 (January 2013): 20–24. doi:10.1111/j.2042-3306.2011.00534.x.
- Task Force. "Heart Rate Variability. Standards of Measurement, Physiological Interpretation, and Clinical Use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology." *European Heart Journal* 17, no. 3 (March 1996): 354–81.
- Te Pas, F. W., I. D. Wijnberg, A. J. W. Hoekman, E. Graaf-Roelfsema, H. A. Keizer, E. van Breda, B. Ducro, and J. H. van der Kolk. "Skeletal Muscle Transcriptome Profiles Related to Different Training Intensities and Detraining in Standardbred Horses: A Search for Overtraining Biomarkers." *Veterinary Journal (London, England: 1997)* 197, no. 3 (September 2013): 717–23. doi:10.1016/j.tvjl.2013.03.052.
- Thayer, J. F., A. W. Hahn, M. A. Pearson, J. J. Sollers, P. J. Johnson, and W. E. Loch. "Heart Rate Variability during Exercise in the Horse." *Biomedical Sciences Instrumentation* 34 (1997): 246–51.
- Thornton, J., J. Pagan, and S. Persson. "The Oxygen Cost of Weight Loading and Inclined Treadmill Exercise in the Horse," 1987. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US8925780>.
- Tian, K., J. Qin, L. Huang, M. Long, J. Wu, S. Yu, and Y. Yu. "The effect of aerobic and anaerobic endurance training on the regulating function of autonomic nervous system and its significance." *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi = Journal of Biomedical Engineering = Shengwu Yixue Gongchengxue Zazhi* 23, no. 5 (October 2006): 1020–23.
- Tomlin, D. L., and H. A. Wenger. "The Relationship Between Aerobic Fitness and Recovery from High Intensity Intermittent Exercise." *Sports Medicine* 31, no. 1 (2001): 1–11. doi:10.2165/00007256-200131010-00001.

- Trachsel, Ds, A Giraudet, G Hervé, D Maso, and C Robert. "Evolution of Echocardiographic Dimensions with Age and Training in Young Endurance Horses." *Equine Veterinary Journal* 46 (June 1, 2014a): 26–26. doi:10.1111/evj.12267_78.
- Traschel D., Giraudet, A., Hervé, G., Maso, D., Hauri, D.D., Barrey, E., Robert C (2014b) Relationship between body dimension, body weight, age, gender, breed and echocardiographic dimensions in young endurance horses. 7th Congress of the European College of Equine Internal Medicine. Prague (Czech Republic), 6-8 November 2014.
- Tribout P., Robert C., Rivière J, Desjardins C, Mata X, Blouin C, Ricard A, Barrey E. (2014) La morphologie du cheval d'endurance explique une faible part de la performance en course. *Compte-rendu de la 40^{ème} journée de la Recherche Equine*, Paris, 18 mars 2014. 7-15.
- Trinder, J., J. Kleiman, M. Carrington, S. Smith, S. Breen, N. Tan, and Y. Kim. "Autonomic Activity during Human Sleep as a Function of Time and Sleep Stage." *Journal of Sleep Research* 10, no. 4 (December 2001): 253–64.
- Tulppo, M. P., T. H. Mäkikallio, T. Seppänen, R. T. Laukkanen, and H. V. Huikuri. "Vagal Modulation of Heart Rate during Exercise: Effects of Age and Physical Fitness." *The American Journal of Physiology* 274, no. 2 Pt 2 (February 1998): H424–29. (a).
- Tulppo, M. P., T. H. Mäkikallio, T. Seppänen, J. K. Airaksinen, and H. V. Huikuri. "Heart Rate Dynamics during Accentuated Sympathovagal Interaction." *The American Journal of Physiology* 274, no. 3 Pt 2 (March 1998): H810–16. (b).
- Uusitalo, A. L., A. J. Uusitalo, and H. K. Rusko. "Heart Rate and Blood Pressure Variability during Heavy Training and Overtraining in the Female Athlete." *International Journal of Sports Medicine* 21, no. 1 (January 2000): 45–53. doi:10.1055/s-2000-8853.
- Valette, J. P., and S. Bedu. "Etude de La Recuperation Cardiaque Chez Des Chevaux Trotteurs a L'entraînement." *Equathlon* 8, no. 2 (1990): 19–23.
- Valette, J. P., E. Barrey, B. Auvinet, P. Galloux, and R. Wolter. "Exercise Tests in Saddle Horses, 2: The Kinetics of Blood Lactate During Constant Exercise Tests on a Treadmill." *Journal of Equine Veterinary Science* 13, no. 8 (August 1993): 465–68+(1*). doi:10.1016/S0737-0806(07)80286-3.
- Valette, J.P., et al, 1992. Détection précoce de l'aptitude physique chez le Pur-Sang Arabe de course. *EquAthlon vol.4*, 13.
- Van Eekelen, A. P. J., J. H. Houtveen, and G. A. Kerkhof. "Circadian Variation in Base Rate Measures of Cardiac Autonomic Activity." *European Journal of Applied Physiology* 93, no. 1–2 (October 2004): 39–46. doi:10.1007/s00421-004-1158-6.
- Velie, B. D., H. W. Raadsma, C. M. Wade, P. K. Knight, and N. A. Hamilton. "Heritability of Epistaxis in the Australian Thoroughbred Racehorse Population." *Veterinary Journal (London, England: 1997)* 202, no. 2 (November 2014): 274–78. doi:10.1016/j.tvjl.2014.06.010.
- Vincen, T. L., J. R. Newton, C. M. Deaton, S. H. Franklin, T. Biddick, K. H. McKeever, P. McDonough, L. E. Young, D. R. Hodgson, and D. J. Marlin. "Retrospective Study of Predictive Variables for Maximal Heart Rate (HRmax) in Horses Undergoing Strenuous

Treadmill Exercise.” *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 36 (August 2006): 146–52.

- Viry, S., J. B. De Graaf, J. P. Frances, E. Berton, M. Laurent, and C. Nicol. “Combined Influence of Expertise and Fatigue on Riding Strategy and Horse–rider Coupling during the Time Course of Endurance Races.” *Equine Veterinary Journal*, April 1, 2014, n/a – n/a. doi:10.1111/evj.12236.
- Viry, S., R. Sleimen-Malkoun, J. J. Temprado, J. P. Frances, E. Berton, M. Laurent, and C. Nicol. “Patterns of Horse-Rider Coordination during Endurance Race: A Dynamical System Approach.” *PloS One* 8, no. 8 (2013): e71804. doi:10.1371/journal.pone.0071804.
- Visser, E. K., C. G. van Reenen, J. T. N. van der Werf, M. B. H. Schilder, J. H. Knaap, A. Barneveld, and H. J. Blokhuis. “Heart Rate and Heart Rate Variability during a Novel Object Test and a Handling Test in Young Horses.” *Physiology & Behavior* 76, no. 2 (June 1, 2002): 289–96.
- Von Borell, E., J. Langbein, G. Després, S. Hansen, C. Leterrier, J. Marchant-Forde, R. Marchant-Forde, et al. “Heart Rate Variability as a Measure of Autonomic Regulation of Cardiac Activity for Assessing Stress and Welfare in Farm Animals -- a Review.” *Physiology & Behavior* 92, no. 3 (October 22, 2007): 293–316. doi:10.1016/j.physbeh.2007.01.007.
- Von Lewinski, M., S. Biau, R. Erber, N. Ille, J. Aurich, J. M. Faure, E. Möstl, and C. Aurich. “Cortisol Release, Heart Rate and Heart Rate Variability in the Horse and Its Rider: Different Responses to Training and Performance.” *Veterinary Journal (London, England: 1997)* 197, no. 2 (August 2013): 229–32. doi:10.1016/j.tvjl.2012.12.025.
- Voss, B., E. Mohr, and H. Krzywanek. “Effects of Aqua-Treadmill Exercise on Selected Blood Parameters and on Heart-Rate Variability of Horses.” *Journal of Veterinary Medicine. A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine* 49, no. 3 (April 2002): 137–43.
- Votion, D. M., E. Gnaiger, H. Lemieux, A. Mouithys-Mickalad, and D. Serteyn. “Physical Fitness and Mitochondrial Respiratory Capacity in Horse Skeletal Muscle.” *PLoS ONE* 7, no. 4 (April 18, 2012). doi:10.1371/journal.pone.0034890.
- Votion, D.-M., A. Fraipont, A. G. Goachet, C. Robert, E. van Erck, H. Amory, J. Ceusters, et al. “Alterations in Mitochondrial Respiratory Function in Response to Endurance Training and Endurance Racing.” *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 38 (November 2010): 268–74. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00271.x.
- Waller, A., G. Ecker, and M. Lindinger. “Electrolyte Supplementation Prior to Prolonged Submaximal Exercise Results in Decreased PCO₂ and tCO₂ During Exercise and Recovery.” *Equine Veterinary Journal* 46 (June 1, 2014): 20–20. doi:10.1111/evj.12267_60.
- Walsberg, G. E. “Coat Color and Solar Heat Gain in Animals.” *BioScience* 33, no. 2 (February 1, 1983): 88–91. doi:10.2307/1309169.
- Waran, N. K., V. Robertson, D. Cuddeford, A. Kokoszko, and D. J. Marlin. “Effects of Transporting Horses Facing Either Forwards or Backwards on Their Behaviour and Heart Rate.” *The Veterinary Record* 139, no. 1 (July 6, 1996): 7–11.
- Weller, R., T. Pfau, S. A. May, and A. M. Wilson. “Variation in Conformation in a Cohort of

- National Hunt Racehorses.” *Equine Veterinary Journal* 38, no. 7 (November 2006): 616–21.
- Weston, A. R., K. H. Myburgh, F. H. Lindsay, S. C. Dennis, T. D. Noakes, and J. A. Hawley. “Skeletal Muscle Buffering Capacity and Endurance Performance after High-Intensity Interval Training by Well-Trained Cyclists.” *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* 75, no. 1 (1997): 7–13.
- Wilmore, J. H., P. R. Stanforth, J. Gagnon, A. S. Leon, D. C. Rao, J. S. Skinner, and C. Bouchard. “Endurance Exercise Training Has a Minimal Effect on Resting Heart Rate: The HERITAGE Study.” *Medicine and Science in Sports and Exercise* 28, no. 7 (July 1996): 829–35.
- Wolf, M. M., G. A. Varigos, D. Hunt, and J. G. Sloman. “Sinus Arrhythmia in Acute Myocardial Infarction.” *The Medical Journal of Australia* 2, no. 2 (July 15, 1978): 52–53.
- Wolframm, I. A., J. Bosga, and R. G. J. Meulenbroek. “Coordination Dynamics in Horse-Rider Dyads.” *Human Movement Science* 32, no. 1 (February 2013): 157–70. doi:10.1016/j.humov.2012.11.002.
- Yamamoto, Y., and R. L. Hughson. “Coarse-Graining Spectral Analysis: New Method for Studying Heart Rate Variability.” *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 71, no. 3 (September 1991): 1143–50.
- Yamashita, K., S. Tsubakishita, S. Futaok, I. Ueda, H. Hamaguchi, T. Seno, S. Katoh, Y. Izumisawa, T. Kotani, and W. W. Muir. “Cardiovascular Effects of Medetomidine, Detomidine and Xylazine in Horses.” *The Journal of Veterinary Medical Science / the Japanese Society of Veterinary Science* 62, no. 10 (October 2000): 1025–32.
- Younes, M., C. Robert, F. Cottin, and E. Barrey. “Genetic Component of Endurance Ability.” *Equine Veterinary Journal* 46 (June 1, 2014): 15–15. doi:10.1111/evj.12267_46.
- Young, L. E. “Cardiac Responses to Training in 2-Year-Old Thoroughbreds: An Echocardiographic Study.” *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 30 (July 1999): 195–98.
- Young, L. E., D. J. Marlin, C. Deaton, H. Brown-Feltner, C. A. Roberts, and J. L. N. Wood. “Heart Size Estimated by Echocardiography Correlates with Maximal Oxygen Uptake.” *Equine Veterinary Journal. Supplement*, no. 34 (September 2002): 467–71.
- Zhou, M. Y., H. Klitgaard, B. Saltin, R. R. Roy, V. R. Edgerton, and P. D. Gollnick. “Myosin Heavy Chain Isoforms of Human Muscle after Short-Term Spaceflight.” *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 78, no. 5 (May 1995): 1740–44.

Livre et chapitre dans un ouvrage imprimé

- Ancelet, E. *Les raids d'endurance équestre*. Editions Crépin-Leblond, 2014. 294p.
- Barone, R. *Anatomie Comparée Des Mammifères Domestiques*, Tome 5, angiologie, Ed. Vigot, 1996, 904 pages.
- Billat, V. L. *Physiologie et méthodologie de l'entraînement: De la théorie à la pratique*. Edition 3. De Boeck Supérieur, 2003. 226p.
- Billat, V. L. *VO2 max à l'épreuve du temps: Pour une nouvelle vision de l'entraînement*. De Boeck Supérieur, 2013. 224p.
- Bowling, A. T., and A. Ruvinsky. *The Genetics of the Horse*. CABI, 2000.
- Forest, M., L. Martin, G. Tortora, and B. Derrickson. *Principes d'anatomie et de physiologie*. Édition : 4e édition. Bruxelles; Saint-Laurent (Québec): De Boeck, 2007.
- Hinchcliff, K. W., A. J. Kaneps, and R. J. Geor. *Equine Sports Medicine and Surgery*. Elsevier Health Sciences, 2013.
- Kenney, W. L. *Physiologie du sport et de l'exercice*. Édition : 4e édition. Bruxelles: De Boeck, 2009.
- Snow DH, Valberg SJ, Muscle anatomy, physiology and adaptation to exercise and training. In : Hodgson Rose (eds): *The Athletic Horse*. Philadelphia: Saunders, 1994, 411p.
- Loving, N. S., L. Meriaux, and M. Soulier. *Tenir la distance : Tout sur le cheval d'endurance*. Arles (Bouches-du-Rhône): Actes Sud, 2004.
- Marlin, D., and K. J. Nankervis. *Equine Exercise Physiology*. John Wiley & Sons, 2013.
- Monod, H., and R. Flandrois. *Physiologie du sport: bases physiologiques des activités physiques et sportives*. Masson, 2003.

Travaux universitaires

- Buchheit, Martin. *Répercussions de l'activité physique sur la variabilité cardiaque au cours de la veille et du sommeil*. Université Louis Pasteur de Strasbourg, 2004, 61 p.
- Cottin, Francois. *Effet de l'exercice sur le contrôle cardiovasculaire: interactions entre le système nerveux autonome et le mode ventilatoire*. Paris-Sud, 1999, 149 p.
- Demonceau, Thierry. *Appréciation de l'aptitude physique du cheval d'endurance: Interet du seuil anaérobie lactique*. Thèse d'exercice, Ecole vétérinaire d'Alfort, 1990.

Langlois, Caroline-Charlotte. *Développement de troubles métaboliques chez les chevaux d'endurance lors de courses de longue distance : étude épidémiologique sur les épreuves françaises en 2003*. La faculté de médecine de Creteil, 2006, 67 p.

Communication dans un congrès

Garlinghouse, S. E., R. E. Bray, E. A. Cogger, and S. J. Wickler. "The Influence of Body Measurements and Condition Score on Performance Results during the 1998 Tevis Cup." In *Proceedings 16th Equine Nutrition and Physiology Society Symposium*, 398–402, 1999. <http://www.shady-acres.com/susan/tevis98.shtml>.

Marlin, D. J., J. McEwen, and F. Sluyter. "Completion and Treatment Rates in Modern Endurance Racing." In *Proceedings of 4th International Equitation Science Conference, Dublin, Ireland*, Vol. 67, 2008.

Metayer, N., S. Biau, J. L. Cochet, and E. Barrey. "Study of locomotion and morphological factors in the performance of the horse specialized in endurance tests." 67–76. Les Haras Nationaux Direction du Développement, 2004.

Ricard A., C. Robert, C. Blouin, F. Baste, X. Mata, L. Schibler, E. Barrey. "Détection de QTL associés à la performance en course d'endurance et à la conformation chez le cheval Arabe". *Xe Colloque Agenae*, Nantes, 12-13 mai, 2014.

Tavernier, A. "Is the Performance at 4 Years in Jumping Informative for Later Results." In *43rd Annual Meeting of European Association for Animal Production*, 13–17, 1992.

Sites web consultés

AFLD. "Agence Française de Lutte Contre Le Dopage," April 12, 2012. <https://www.afld.fr/>.

AFLD. "Documentations," April 12, 2012. <https://www.afld.fr/documentation/recherche>.

FEI. "Anti-Doping Rules." Accessed March 27, 2015. <http://www.fei.org/content/anti-doping-rules>.

FEI. "Endurance Rules." Accessed September 15, 2014. <http://www.fei.org/fei/regulations/endurance>.

FEI. "Main Endurance." Accessed September 15, 2014. <http://www.fei.org/fei/disc/endurance>.

FEI. "Main Veterinarians." Accessed September 15, 2014. <http://www.fei.org/fei/your-role/veterinarians>.

FFE. "Présentation de L'endurance / Endurance / Général / Disciplines Equestres / Accueil / Sites FFE - Portail FFE." Text, September 15, 2014. <http://www.ffe.com/Disciplines-Equestres/General/Endurance/Presentation-de-l-endurance>.

Ricard, A., and M. Touvais. "Des Indices Pour L'endurance ?" Article-journal. *Equ'idée 053*, June 2005. [http://baborplus.univbordeaux.fr/notice.php?q=auteurs_tous%3A\(%22Touvais%2C%20M.%22\)&spec_expand=&start=1](http://baborplus.univbordeaux.fr/notice.php?q=auteurs_tous%3A(%22Touvais%2C%20M.%22)&spec_expand=&start=1).

Titre : Facteurs de variation de l'activité cardiaque au repos, à l'effort et pendant la récupération chez le cheval d'endurance

Mots clés : variabilité cardiaque, endurance, génétique, dopage, âge, entraînement, performance

Résumé : Le cheval de race arabe présente des dispositions anatomiques et physiologiques très favorables à l'effort d'endurance. Cependant tous les chevaux ne sont pas aussi performants en course d'endurance : seuls les individus dotés de caractères génétiques et phénotypiques très adaptés (morphologie, métabolisme, locomotion ...) sont réellement performants dans cette discipline extrême. L'objectif de cette thèse était de trouver des critères cardiaques favorables en course d'endurance équestre à partir de l'analyse de l'activité cardiaque et de la variabilité de la fréquence cardiaque (VFC) au repos, à l'effort et pendant la récupération. Par ailleurs, sur un plan très appliqué, cette thèse a évalué les effets cardiaques de certaines modalités de dopage afin de prendre des mesures de prévention adaptées. Nous avons identifié pour la première fois, des indices cardiaques en rapport avec la performance du cheval d'endurance.

Il s'agit du temps de récupération cardiaque (TRC) et des paramètres de la VFC qui varient en fonction de l'âge du cheval et des conditions environnementales. Nous avons également démontré que 45% du TRC est d'origine héréditaire chez le cheval de race arabe. Ces résultats sont très utiles pour la sélection génétique des meilleurs reproducteurs en endurance. D'autre part, cette thèse a permis d'identifier les profils des chevaux à risque et de proposer des seuils de prédiction d'élimination en course en se basant sur la vitesse et les paramètres cardiaques mesurés avant l'élimination. Enfin dans le cadre de la lutte anti-dopage, cette thèse a exploré une nouvelle méthode non-invasive de détection des chevaux dopés par des substances bradycardisantes à partir des modifications caractéristiques de la VFC.

Title : Factors of variation of cardiac activity at rest, during exercise and during recovery in endurance horses

Keywords : Heart rate variability, endurance, genetics, age, training, performance

Abstract: Arabian horses have anatomical and physiological characteristics strongly adapted to endurance exercise. However, only horses which have particular genetic and phenotypic characteristics (breed, morphology, metabolism, locomotion...) are really efficient in endurance competitions. The aim of this thesis was to find favorable cardiac criteria in endurance competitions from the analysis of heart rate variability (HRV) during rest, exercise and recovery. Moreover, this thesis has allowed highlighting the risks and doping methods in order to take appropriate preventive measures. This thesis is the first to demonstrate a relationship between cardiac index and performance (cardiac recovery) in endurance horses.

The cardiac recovery time (CRT) and HRV index varied with age and environmental conditions. We also showed that heritability of CRT was estimated to 45% in endurance horses of Arabian breed. This information is very useful for breeding selection in endurance horses. Moreover, this study showed that it would be possible to predict elimination and detect unfit horses during endurance races using speed value and cardiac recovery variables collected one phase ahead of that of elimination. Finally, in the anti-doping framework, this thesis revealed a non-invasive method based on characteristic modifications in HRV for detecting horses medicated with bradycardic substances.