



Thèse

Pour obtenir le grade de

**Docteur de l'Université Louis Pasteur
Strasbourg I**

Discipline : pharmacologie

Par Isabelle SIGNOLET

***EVALUATION DES EFFETS DE
SUBSTANCES INHIBITRICES
SYMPATHIQUES DANS LA
DYSFONCTION VENTRICULAIRE
GAUCHE EXPERIMENTALE***

Soutenue publiquement le 26 octobre 2007

Membres du jury

Directeur de thèse : M. Pascal BOUSQUET, Professeur, Strasbourg

Rapporteur interne : M. Gérald ROUL, Professeur, Strasbourg

Rapporteur externe : M. Giampiero BRICCA, Docteur, Lyon

Rapporteur externe : M. Hervé MILLART, Professeur, Reims

Examineur : M. Laurent MONASSIER, Docteur, Strasbourg

Je tiens à exprimer mes plus sincères remerciements aux membres du jury qui m'ont fait l'honneur de diriger et/ou de juger ce travail :

- **Monsieur le Professeur Pascal Bousquet** : vous aviez accepté de m'accueillir dans votre laboratoire durant quinze jours, pour un stage de maîtrise, et cela m'a donné envie de continuer dans ce laboratoire. Je me suis donc lancée dans un DEA, puis une thèse. Les 6 années passées dans ce laboratoire pluridisciplinaire m'auront apporté une connaissance scientifique nécessaire au bon déroulement de ma carrière.

- **Monsieur le Professeur Gérard Roul**, rapporteur interne, qui par sa spécialité apportera à ce travail un avis très critique.

- **Monsieur le Docteur Giampiero Bricca**, rapporteur externe, qui accepte une nouvelle fois de se pencher sur la thématique des « imidazolines ».

- **Monsieur le Professeur Hervé Millart**, rapporteur externe, qui pourra apporter ainsi un avis extérieur intéressant sur ce travail.

- **Monsieur le Docteur Laurent Monassier**, examinateur, avec qui j'ai pu discuter de l'évolution de mes travaux durant ma thèse et qui m'aura donné les bons conseils aux bons moments. De plus, je tiens à le remercier sincèrement de la possibilité qu'il m'a donné de faire des cours à la faculté des Sciences de la Vie, et d'apprendre la technique d'échocardiographie chez le petit animal. Ces atouts seront pour moi d'une grande importance dans ma carrière.

Je remercie également la région Alsace et l'INSERM qui m'ont permis de mener à bien ce travail, en me donnant une bourse sur une durée de deux ans.

*A mes parents,
Sans qui rien n'aurait été possible*

SOMMAIRE

ABREVIATIONS

PREAMBULE

INTRODUCTION

1. L'INSUFFISANCE CARDIAQUE CHRONIQUE	1
1.1. Définition.....	1
1.2. Etiologies.....	3
1.2.1. Surcharge mécanique du ventricule gauche (VG).....	3
1.2.2. Cardiopathie ischémique.....	3
1.2.3. Cardiomyopathie.....	3
1.3. Physiopathologie.....	4
1.3.1. La fonction cardiaque.....	4
1.3.2. L'insuffisance cardiaque par dysfonction diastolique.....	8
1.3.3. L'insuffisance cardiaque par dysfonction systolique.....	9
2. LA CARDIOPATHIE HYPERTENSIVE	12
2.1. Définition de l'hypertension artérielle.....	12
2.2. Les causes de l'hypertension.....	13
2.3. Conséquences cardiaques de l'hypertension.....	13
2.3.1. Une hypertrophie ventriculaire gauche.....	13
2.3.2. Une dysfonction diastolique.....	15
2.3.3. Une fonction systolique préservée.....	16
2.3.4. Une hypoperfusion sous-endocardique.....	16
2.4. Evolution vers une dysfonction ventriculaire mixte : une insuffisance cardiaque congestive.....	17
2.4.1. Evolution de l'hypertrophie ventriculaire gauche.....	17
2.4.2. IC systolique.....	18
2.4.3. IC diastolique.....	18
2.4.4. Signes cliniques associés.....	19
3. EVALUATION DE LA FONCTION CARDIAQUE	20
3.1. L'échocardiographie.....	21
3.1.1. Evaluation structurale du ventricule gauche.....	21
3.1.2. Evaluation de la fonction systolique.....	22
3.1.3. Evaluation de la fonction diastolique.....	23
3.1.3.1. Les différents paramètres.....	
3.1.3.2. Les différents profils du remplissage ventriculaire gauche	
3.2. Le cathétérisme ventriculaire gauche.....	28
3.2.1. Evaluation de la fonction systolique.....	28
3.2.2. Evaluation de la fonction diastolique.....	29
3.3. Conclusion.....	29
4. REGULATION DE LA FONCTION CARDIAQUE	30
4.1. Organisation du système.....	30
4.1.1. Structures centrales.....	30
4.1.1.1. Les neurones pré-moteurs	
4.1.1.2. Les neurones moteurs pré-ganglionnaires	

4.1.1.3. Les neurones afférents	
4.1.2. Voies périphériques	34
4.2.2.1. les récepteurs alpha-adrénergiques	
4.2.2.2. Les récepteurs bêta-adrénergiques	
4.2. Implication du SNS dans les dysfonctions cardiaques	35
4.2.1. Action vasculaire	36
4.2.2. Action sur la matrice extracellulaire cardiaque	36
4.2.3. Action cardiotrophique	36
4.2.4. Effets toxiques	37
4.2.5. Effet arythmogène	37
5. TRAITEMENTS PHARMACOLOGIQUES DES DYSFONCTIONS VENTRICULAIRES GAUCHES DANS LA CARDIOPATHIE HYPERTENSIVE	37
5.1. Les β -bloqueurs	39
5.1.1. Mode d'action	39
5.1.2. Traitement de la cardiopathie hypertensive	40
5.1.3. Traitement de l'ICC	41
5.2. Les α -bloqueurs	42
5.3. Les inhibiteurs sympathiques d'action centrale	42
5.3.1. Intérêts thérapeutiques	42
5.3.2. Description des médicaments	43
5.3.2.1. Localisation des RI_1	
5.3.2.2. Voies de transduction des RI_1	
5.3.3. Traitement de la cardiopathie hypertensive	46
5.3.4. Traitement de l'ICC	47
6. MODELES EXPERIMENTAUX DE DYSFONCTION VENTRICULAIRE GAUCHE	49
6.1. Le rat	50
6.2. Le chien	52
6.3. Le lapin	52
BUTS DU TRAVAIL	55
CHAPITRE I	57
1. INTRODUCTION : CHOIX DU MODELE EXPERIMENTAL	58
2. MATERIEL ET METHODES	59
2.1. Mise en place du modèle expérimental de Goldblatt de type 1K,1C chez le lapin : procédure chirurgicale	59
2.2. Validation du modèle	61
2.2.1. Mesures hémodynamiques	62
2.2.2. Evaluation de la morphologie et de la fonction cardiaque par échocardiographie	62
2.2.3. Cathétérisme intra-ventriculaire	64

2.2.4. Analyse post-mortem.....	64
2.2.5. Histologie.....	65
2.2.6. Analyse sanguine.....	66
2.2.7. Statistiques.....	66
3. RESULTAT 1 : CHOIX DE LA STENOSE.....	67
3.1. Sténose par clip.....	67
3.2. Sténose par ligature.....	67
3.3. Conclusions.....	69
4. RESULTATS 2 : CONSEQUENCES HEMODYNAMIQUES ET RENALES DE LA CHIRURGIE.....	69
4.1.Lapins 1K,1C(HVG).....	69
4.1.1. Pressions artérielles et fréquence cardiaque.....	69
4.1.2. Dosages sanguins.....	70
4.2.Lapins 1K,1C(IC).....	71
4.2.1. Pression artérielle et fréquence cardiaque.....	71
4.2.2. Dosages sanguins.....	72
4.3.Conclusion.....	73
5. RESULTATS 3 : EVALUATION DE LA FONCTION CARDIAQUE DANS LE MODELE 1K,1C DE GOLDBLATT.....	74
5.1.Fréquence cardiaque et fonction systolique.....	78
5.2.Fonction diastolique.....	79
5.3.Evaluation de la masse ventriculaire gauche.....	79
5.4.Etude de la variabilité lorsque l'échocardiographie est réalisée en position debout.....	81
5.5.Conclusion.....	83
6. RESULTATS 4 : EVALUATION DE LA FONCTION CARDIAQUE CHEZ LES LAPINS 1K,1C PRESENTANT UNE CARDIOPATHIE HYPERTENSIVE AU STADE COMPENSE.....	84
6.1.Remodelage cardiaque.....	84
6.1.1. Evaluation par échocardiographie.....	84
6.1.2. Confirmation par analyse post-mortem.....	85
6.2.Fonction systolique.....	87
6.2.1. Evaluation par échocardiographie.....	87
6.2.2. Evaluation par cathétérisme ventriculaire gauche.....	87
6.3.Fonction diastolique.....	88
6.3.1. Evaluation par échocardiographie.....	88
6.3.2. Evaluation par cathétérisme ventriculaire gauche.....	90
6.4.Fonction vasculaire.....	91
7. RESULTATS 5 : EVALUATION DE LA FONCTION CARDIAQUE CHEZ LES LAPINS INSUFFISANTS CARDIAQUES.....	93
7.1.Symptômes cliniques.....	93
7.2.Remodelage cardiaque.....	94
7.2.1. Evaluation par échocardiographie.....	94
7.2.2. Confirmation par étude post-mortem.....	95
7.3.Fonction systolique.....	96

7.4.Fonction diastolique.....	97
7.4.1. Evaluation par échocardiographie.....	97
7.4.2. Confirmation par l'analyse post-mortem.....	98
8. CONCLUSION.....	99
CHAPITRE II.....	103
1. INTRODUCTION.....	104
2. MATERIEL ET METHODES.....	105
2.1 Protocole.....	105
2.2 Statistiques.....	106
3. RESULTATS.....	107
3.1 Effets sur la pression artérielle et la fréquence cardiaque.....	107
3.2 Effets sur la fonction systolique.....	108
3.3 Effets sur la fonction diastolique.....	109
4. DISCUSSION.....	112
5. CONCLUSION.....	115
CHAPITRE III.....	116
1. INTRODUCTION.....	117
2. REALISATION D'ETUDES PILOTES.....	118
2.1.Pharmacocinétique : voie d'administration.....	118
2.2.Choix d'une dose.....	120
2.3.Conclusion.....	121
3. MISE EN PLACE DU TRAITEMENT CHRONIQUE.....	122
3.1.Protocole d'étude.....	122
3.2.Mesure de la pression artérielle.....	123
3.3.Echocardiographie.....	123
3.4.Pose des minipompes.....	124
3.5.Cathétérisme du ventricule gauche.....	124
3.6.Histologie.....	124
3.7.Statistiques.....	124
4. CARACTERISTIQUES BASALES DES LAPINS 1K,1C(HVG).....	126
5. EFFETS D'UN TRAITEMENT CHRONIQUE AVEC LA RILMENIDINE OU LE METOPROLOL.....	127
5.1.Effets hémodynamiques.....	127
5.2.Effets rénaux.....	129

5.3.Effets sur le remodelage cardiaque.....	130
5.3.1. Analyse échocardiographique.....	130
5.3.2. Etude post-mortem.....	132
5.4.Effets du traitement sur la fonction systolique.....	135
5.4.1. Evaluation échocardiographique.....	135
5.4.2. Evaluation de la fonction systolique par cathétérisme.....	136
5.5.Effets du traitement sur la fonction diastolique.....	137
5.5.1. Evaluation échocardiographique.....	137
5.5.2. Evaluation par cathétérisme.....	140
6. DISCUSSION.....	140
7. CONCLUSION.....	144
CHAPITRE IV.....	145
1. INTRODUCTION.....	146
2. MATERIEL ET METHODES.....	148
2.1 Protocole d'étude.....	148
2.2 Echocardiographie.....	150
2.3 Pose des minipompes.....	150
2.4 Statistiques.....	150
3. RESULTATS 1 : VALEURS DE BASE ET APRES UNE SEMAINE DE TRAITEMENT.....	151
4. RESULTATS 2 : POUcentage DE MORTALITE.....	154
5. RESULTATS 3 : GROUPE FUROSEMIDE.....	156
5.1 Effets sur le remodelage.....	156
5.2 Effets sur la fonction systolique.....	157
5.3 Effets sur la fonction diastolique.....	158
6. RESULTATS 4 : GROUPE FUROSEMIDE-METOPROLOL.....	159
6.1 Effets sur le remodelage.....	159
6.2 Effets sur la fonction systolique.....	160
6.3 Effets sur la fonction diastolique.....	162
7. RESULTATS 5 : GROUPE FURO-CLONIDINE.....	165
7.1 Effets sur le remodelage.....	165
7.2 Effets sur la fonction systolique.....	166
7.3 Effets sur la fonction diastolique.....	168
8. RESULTATS 6 : GROUPE FURO-RILMENIDINE.....	171
8.1 Effets sur le remodelage.....	172
8.2 Effets sur la fonction systolique.....	173
8.3 Effets sur la fonction diastolique.....	174

9. RESULTATS 7 : COMPARAISON ENTRE LES GROUPES	176
9.1 Evaluation de la fonction cardiaque.....	176
9.1.1 Fonction systolique.....	176
9.1.2 Fonction diastolique.....	177
9.2 Remodelage cardiaque observé en fin de traitement.....	178
9.3 Effets rénaux des différents protocoles de traitement.....	180
10. CONCLUSION ET DISCUSSION	181
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	187
BIBLIOGRAPHIE	200
PUBLICATIONS	218

ABBREVIATIONS

1K,1C : One Kidney, One Clip

1K,1C(HVG) : groupe de lapins développant une hypertension artérielle

1K,1C(IC) : groupe de lapins développant une insuffisance cardiaque congestive

2K,1C : Two Kidney, One Clip

A : vitesse de l'onde atriale du flux mitral

Aa : vitesse de mouvement des valves mitrales durant la phase tardive de la diastole

Ar : vitesse de l'onde rétro-atriale du flux pulmonaire

Ang I et Ang II : angiotensine I et II

ANP : Atrial natriuretic peptide

BHE : barrière hémato-encéphalique

Clo : clonidine

CVLM : noyau caudal ventrolatéral du bulbe

D : vitesse de l'onde diastolique du flux pulmonaire

Dex : dexmédétomidine

DTD et DTS : diamètres télé-diastolique et –systolique

DTI : Doppler tissulaire

Dur A : durée de l'onde atriale du flux mitral

Dur Ar : durée de l'onde rétro-atriale du flux pulmonaire

E : vitesse de l'onde précose (early) du flux mitral

Ea : vitesse de mouvement des valves mitrales durant la phase précose de la diastole

ERP : épaisseur relative des parois

FC : fréquence cardiaque

FE : fraction d'éjection

FR : fraction de raccourcissement

FRmd : fraction de raccourcissement à mi-paroi

Furo : furosémide

HTA : hypertension artérielle

HVG : hypertrophie ventriculaire gauche

IC : insuffisance cardiaque

ICC : insuffisance cardiaque congestive

IEC : inhibiteur de l'enzyme de conversion

IML : région inter-médio-latérale du bulbe rachidien

Méto : métoprolol

Mode TM : mode temps-mouvement

mVG : masse du ventricule gauche

mVG/pds : masse du ventricule gauche rapporté au poids de l'animal

NA : noradrénaline

NFS : noyau du faisceau solitaire

NPV : noyau paraventriculaire

NRL : noyau réticulaire latéral

NYHA : New-York Heart Association

OD : oreillette droite

OG : oreillette gauche

PA : pression artérielle

PAD : pression artérielle diastolique

PAM : pression artérielle moyenne

PAS : pression artérielle systolique

Pcb : placebo

PP : paroi postérieure du ventricule gauche

PTDVG et PTSVG : pressions télé-diastolique et –systolique du VG

PVG : pressions ventriculaires gauches

P-V : pression-volume

Q : débit cardiaque

RA α_1 et α_2 : récepteurs adrénergiques de types alpha 1 et 2

RA β : récepteur adrénergique de type bêta

RAT₁ et RAT₂ : récepteur de l'angiotensine de types 1 et 2

RI₁ : récepteur imidazolinique de type 1

RM₂ : récepteur muscarinique de type 2

Ril : rilménidine

RVLM : région rostroventrolatérale du bulbe rachidien

S : vitesse de l'onde systolique du flux pulmonaire

Sa : vitesse de mouvement des valves mitrales durant la systole

SNA : système nerveux autonome

SNS : système nerveux sympathique

SNP : système nerveux parasympathique

SP : sérum physiologique

SRA : système rénine-angiotensine

τ : constante de relaxation tau

TDE : temps de décélération de l'onde E

TRIV : temps de relaxation isovolumique

VD : ventricule droit

VES : volume d'éjection systolique

VG : ventricule gauche

VTD et VTS : volumes télé-diastolique et –systolique

PREAMBULE

Durant ce travail, nous avons voulu déterminer les différents effets des inhibiteurs sympathiques centraux sur la fonction cardiaque. Nous avons donc évalué l'intérêt de ces produits dans le traitement des dysfonctions cardiaques, observées dans l'insuffisance cardiaque chronique, plus précisément dans la cardiopathie hypertensive. Nous avons pour cela dû mettre en place un modèle expérimental adapté à cette étude.

Avant de développer nos différents résultats, nous allons définir plusieurs points nécessaires à la compréhension de l'ensemble de ce travail et donner les arguments justifiant son intérêt.

INTRODUCTION

1. L'INSUFFISANCE CARDIAQUE CHRONIQUE

1.1 Définition

L'insuffisance cardiaque (IC) chronique se définit comme l'incapacité du cœur à assurer un débit sanguin suffisant pour faire face aux besoins des différents organes en oxygène. C'est un problème majeur de santé publique. En France, le nombre d'individus atteints d'insuffisance cardiaque chronique est estimé à 600 000, soit 1 % de la population globale avec 120 000 nouveaux cas par an. La fréquence de cette maladie augmente chaque année, en raison du vieillissement de la population, de l'accroissement de l'obésité et de la sédentarité. Cette pathologie est aujourd'hui la première cause de décès. Les étiologies de l'insuffisance cardiaque chronique sont multiples car toutes les pathologies cardiaques, ou presque, y conduisent. En France, les principales étiologies sont l'hypertension artérielle et les cardiopathies ischémiques. Les cardiopathies primitives sont plus rares, mais parmi leurs étiologies, l'importance des facteurs génétiques a récemment été soulignée. Les pathologies valvulaires sont devenues beaucoup plus rares ; seuls les rétrécissements aortiques des sujets âgés et les fuites valvulaires mitrales restent assez fréquents (figure 1). L'insuffisance cardiaque chronique peut également être la conséquence de l'effet combiné de différentes pathologies, chacune à elle seule insuffisante pour conduire à une insuffisance cardiaque ; c'est une des raisons pour lesquelles sa fréquence augmente avec l'âge.

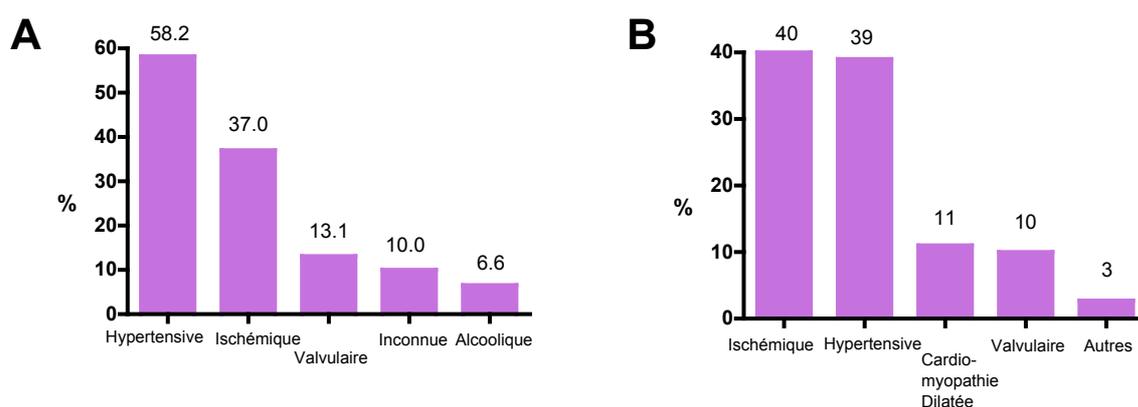


Figure 1 : Importance relative des étiologies de l'insuffisance cardiaque selon 2 études : PRINCEPS conduite par des médecins généralistes (A) et ETICS conduite en milieu hospitalier (B) (Beguin et al., 2004; Jondeau et al., 2004).

Une amélioration permanente du traitement de cette pathologie est donc nécessaire à tous les stades de la maladie. Dans ce but, l'« American College of Cardiology » et l'« American Heart Association » ont établi des recommandations pour l'évaluation et la prise en charge de l'insuffisance cardiaque chronique (Hunt et al., 2001). Ils développent ainsi une nouvelle approche de la classification de l'insuffisance cardiaque chronique englobant à la fois l'évolution et la progression de la pathologie. 4 stades sont identifiés (tableau 1) :

Stades	Description	Exemples
A	Patients présentant des risques importants de développer une IC chronique du fait de la présence de conditions fortement liées au développement de l'IC congestive. Aucune anomalie structurale et fonctionnelle cardiaque, et aucun signes d'IC congestive n'est observée.	Hypertension systémique, maladies coronariennes, diabète, cardiomyopathie, alcoolisme...
B	Patients ayant développé une maladie cardiaque structurale fortement liée à une IC chronique mais n'ayant jamais montré de signes ou de symptômes d'IC chronique.	Hypertrophie ventriculaire gauche, fibrose, dilation ventriculaire gauche, infarctus du myocarde.
C	Patients ayant des premiers symptômes d'IC chronique avec une altération cardiaque structurale.	Dyspnée ou fatigue à l'effort dues à la dysfonction systolique.
D	Patients avec des altérations cardiaques structurales avancées et des symptômes d'IC chronique marqués malgré le traitement, donc nécessitant des interventions chirurgicales.	Hospitalisations fréquentes, nécessité de transplantation, patients avec une assistance circulatoire mécanique.

Tableau 1 : Définition des 4 phases de dysfonction ventriculaire gauche chronique par l'« American College of Cardiology/American Heart Association ».

Le traitement de IC chronique doit débiter dès le stade A de la pathologie. Le traitement radical de la cause de l'insuffisance est alors susceptible d'enrayer l'évolution et de limiter la détérioration myocardique qui conduit à l'IC.

Remarque : le contenu des paragraphes 1.2 et 1.3 provient de différentes sources : <http://www.sfar.org> ; Chapitre VA&VB « physiopathologie clinique » ; G Jondeau ; Médecine thérapeutique ; Alain Nitenberg, Vol.2 n°9, novembre 1996 ; Zile and Brutsaert, 2002.

1.2 Etiologies

En développant les différentes étiologies de l'IC chronique, nous pouvons voir qu'elles se distinguent en fonction de leurs mécanismes physiopathologiques.

1.2.1 Surcharge mécanique du ventricule gauche (VG)

- **Surcharge de pression** regroupant *l'hypertension artérielle* ou le rétrécissement aortique.
- **Surcharge de volume** regroupant l'insuffisance mitrale ou aortique chronique ou aiguë, ou la communication inter-ventriculaire.

Les surcharges mécaniques chroniques sont fonctionnellement bien tolérées pendant plusieurs années ou parfois même plusieurs dizaines d'années, les manifestations congestives d'IC étant tardives.

1.2.2 Cardiopathies ischémiques

L'insuffisance ventriculaire gauche peut survenir dans le cadre de l'évolution de toute forme de cardiopathie ischémique, soit de façon chronique du fait d'une altération progressive de la fonction systolique du ventricule gauche, soit de façon brutale en faveur d'une amputation aiguë de la fonction systolique du ventricule gauche comme dans l'infarctus.

1.2.3 Cardiomyopathies

Elles sont nombreuses : les cardiomyopathies dilatées, hypertrophiques (diffuses ou obstructives) et secondaires (toxiques, éthyliques, dans le cadre d'une myopathie...), les fibro-élastoses et les myocardites (infectieuses, virales ou bactériennes).

1.3 Physiopathologie

1.3.1 La fonction cardiaque

➤ *Courbe pression/volume*

Le travail du VG est d'assurer le débit sanguin nécessaire au fonctionnement de l'organisme. Cet objectif est atteint en éjectant, à une pression donnée contre la résistance vasculaire systémique, une quantité suffisante de sang à chaque systole. La fonction ventriculaire gauche est déterminée par les conditions de charge (pré- et post-charge) et par l'état contractile du myocarde.

Les deux grandeurs physiques en jeu durant tout le cycle cardiaque sont donc la pression et le volume ventriculaire. Ces deux grandeurs sont extrêmement dépendantes l'une de l'autre. Une représentation graphique, permettant de les associer simultanément, donne une bonne description de la fonction cardiaque : c'est la ***courbe pression-volume*** (P-V) (figure 2).

On individualise classiquement quatre périodes dans le cycle cardiaque :

- **la contraction isovolumique**
- **l'éjection**
- **la relaxation isovolumique**
- **le remplissage.**

Les coordonnées P-V en télédiastole définissent la précharge et la postcharge en télésystole. Le reflet de la précharge est la pression capillaire pulmonaire moyenne, et le reflet de la postcharge est la pression artérielle.

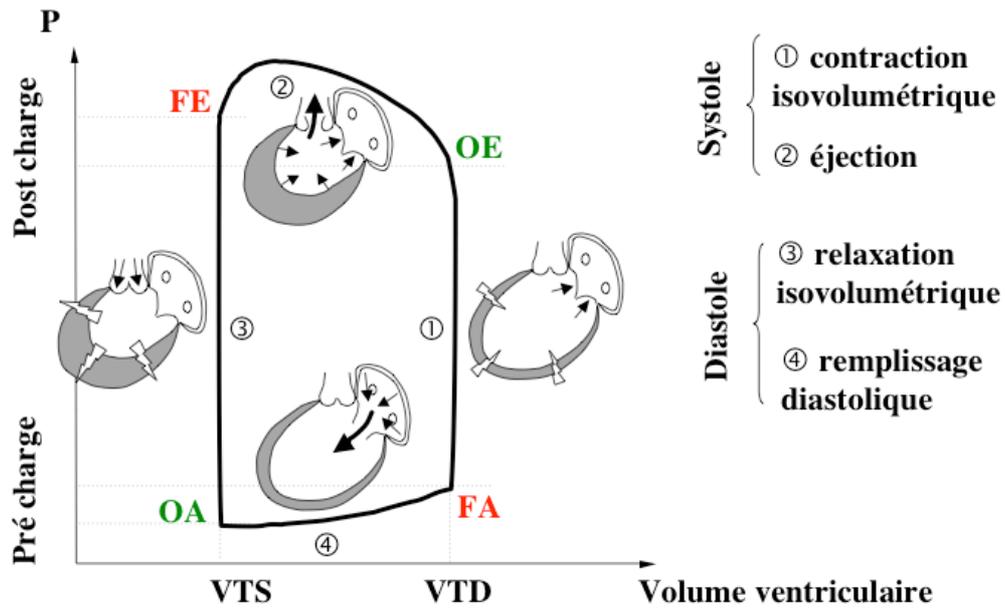


Figure 2 : description de la courbe pression/volume. VTS et VTD = Volumes Télésystolique et Télédiastolique ; OA et FA = ouverture et fermeture de la valve mitrale ; OE et FE = ouverture et fermeture de la valve aortique.

La relation entre le volume et la pression ventriculaire est curvilinéaire en télédiastole et dépend de la compliance du VG ; la relation linéaire en télésystole dépend de la contractilité du VG (figure 3).

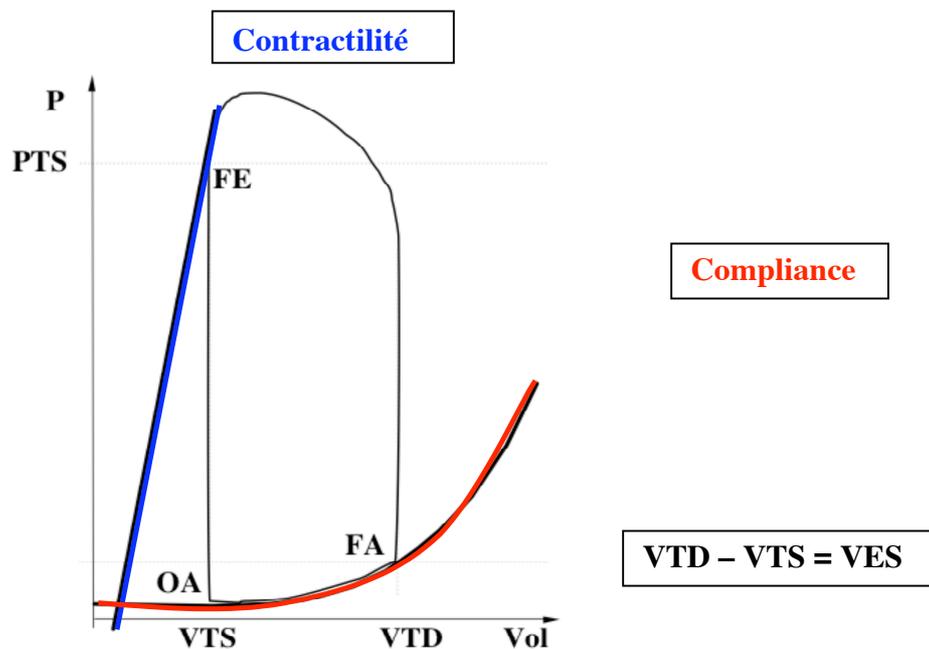


Figure 3 : Relation de la compliance et de la contractilité du VG avec la boucle pression-volume. PTS=Pression Télésystolique ; VTS et VTD=Volumes Télésystolique et Télédiastolique ; VES=Volume d'Ejection Systolique ; FE=fermeture de la valve aortique ; OA et FA=ouverture et fermeture de la valve mitrale.

➤ *La diastole*

Elle est constituée de 4 phases :

- la **relaxation isovolumique**,
- la phase de **remplissage rapide** : la cinétique du remplissage dépend principalement de l'évolution du gradient entre l'oreillette gauche (OG) et le VG. Elle est déterminée par la pression dans l'OG, la vitesse de relaxation, les forces de rappel ventriculaire et les compliances du VG et de l'OG. Dans les conditions normales, 70 à 80 % du remplissage VG a lieu dans cette phase ;
- **diastasis ou remplissage lent** : au milieu de la diastole, le remplissage du ventricule diminue de façon importante, car les pressions auriculaire et ventriculaire sont presque à l'équilibre. Seul un faible remplissage du VG en provenance des veines pulmonaires persiste (moins de 5 % du remplissage total) ;
- **systole auriculaire** : elle élève la pression dans l'OG, le gradient OG-VG et force le passage du sang vers le ventricule (environ 15 à 25 % du remplissage total du VG). Le reflux vers les veines pulmonaires est minime en raison de leur anatomie particulière et de la progression presque péristaltique de la contraction auriculaire. La force de contraction de l'OG est le déterminant majeur du remplissage ventriculaire pendant la fin de la diastole, surtout lorsque le remplissage précoce est faible.

La fonction diastolique est déterminée par (i) la qualité de la relaxation et (ii) l'état de compliance du VG.

(i) **La relaxation** du myocarde est un phénomène actif consommant de l'énergie, et dépend de plusieurs facteurs :

- une réduction de la concentration de calcium, élevée suite à la contraction, par la recapture active du calcium libre intra-cytosolique dans le réticulum sarcoplasmique, et par la sortie du calcium de la cellule myocardique, également selon des phénomènes actifs (figure 4),
- une force de rappel élastique exercée par les structures myocardiques qui améliore la relaxation,
- les conditions de charge.

(ii) **La compliance** de la chambre ventriculaire est un phénomène passif. Elle dépend des propriétés intrinsèques du myocarde (masse, géométrie et composition), des propriétés visco-

élastiques de la paroi et de facteurs externes (relation avec les autres cavités cardiaques, volume pulmonaire).

➤ *La systole*

La contraction est déclenchée à partir de l'entrée passive de calcium dans la cellule durant le potentiel d'action et ce calcium va entraîner la libération de calcium à partir du réticulum sarcoplasmique. Le calcium libre dans la cellule se fixe alors sur la troponine C, provoquant une modification de la configuration spatiale du complexe troponine-tropomyosine. Cela va alors démasquer les sites actifs sur l'actine et permettre ainsi la formation et le cyclage des ponts entre l'actine et la myosine. Il se produit alors un raccourcissement des sarcomères par une succession d'attachement-détachement des têtes de myosine et alors un glissement des filaments d'actine vers le centre du sarcomère (figure 4).

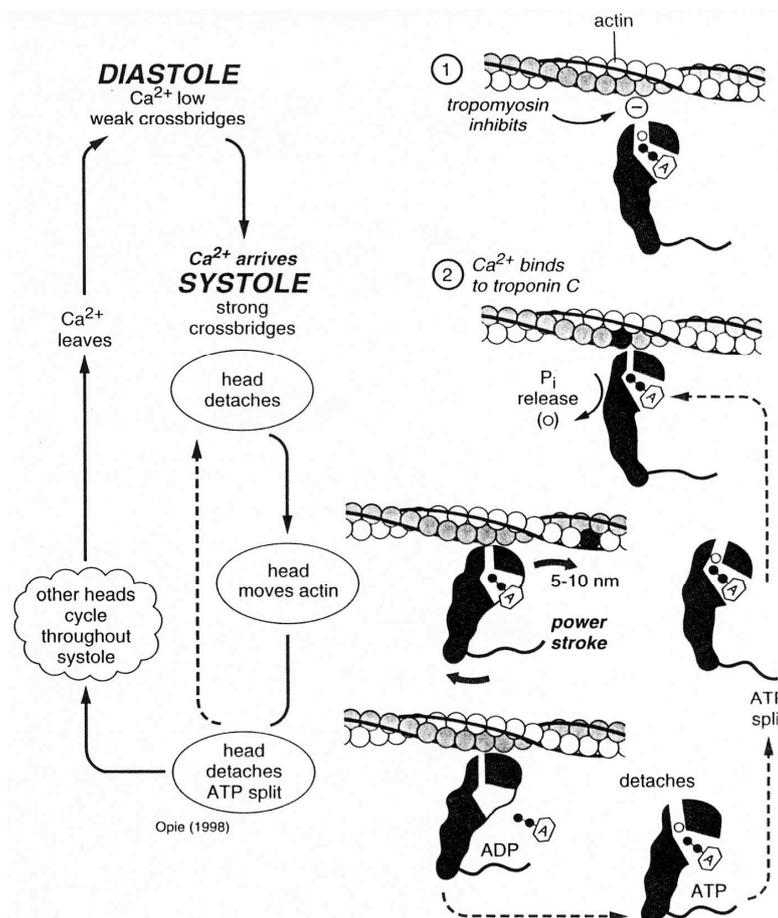


Figure 4 : Cycle contractile activé par le calcium (schéma tiré du livre « Biologie et Pathologie du Cœur et des Vaisseaux, auteur : Pinet F, éditeur : Flammarion Médecine)

La fonction ventriculaire résulte ainsi d'une interaction subtile et permanente entre trois déterminants fondamentaux de la mécanique myocardique : la relaxation, la compliance et la contractilité. La modification d'un ou plusieurs de ces facteurs induit alors une dysfonction cardiaque qui évolue vers une IC.

Il existe schématiquement deux grands types d'IC selon le trouble qui prédomine.

1.3.2 L'insuffisance cardiaque par dysfonction diastolique

C'est un syndrome caractérisé par la présence de signes d'une IC sans modification de la fraction d'éjection. L'IC par dysfonction diastolique est caractérisée par une baisse de compliance (figure 5).

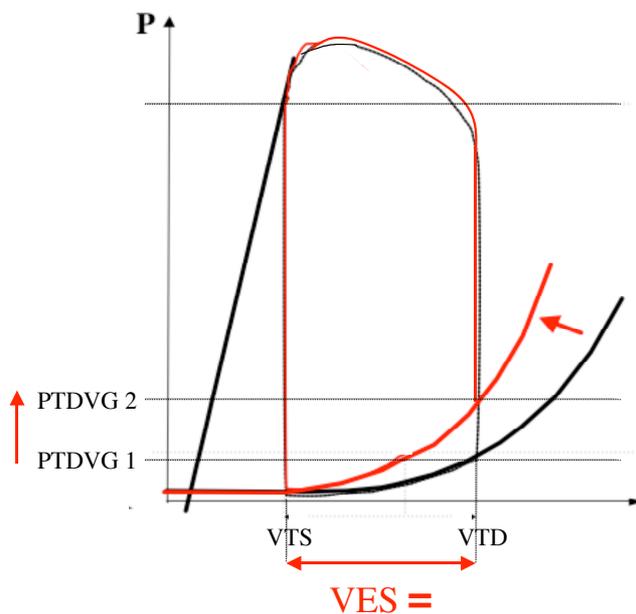


Figure 5 : Conséquences d'une baisse de compliance sur la courbe pression/volume. VTD et VTS= Volumes Télé-Diastolique et -Systolique ; VES= Volume d'Ejection Systolique ; PTDVG=Pression Télédiastolique du VG.

La courbe de compliance est déplacée vers le haut et la gauche, et le ventricule reste de dimensions normales ou souvent même réduites. Pour atteindre un même volume télédiastolique, la pression diastolique doit s'élever. Le VG n'étant pas dilaté, la fonction systolique est conservée.

L'IC par dysfonction diastolique peut être la conséquence de plusieurs phénomènes dont l'effet se ressent à différentes phases du remplissage du VG (Zile et al., 2004; Zile and Brutsaert, 2002) :

- **La phase de relaxation du ventricule** : des troubles de l'homéostasie calcique peuvent entraîner une augmentation du taux de calcium durant la diastole. De plus, une anomalie au niveau des protéines des myofilaments contractiles ou de l'ATPase réduirait la dissociation actine-myosine (Hunter, 2000). Ces mécanismes réduisent ainsi la vitesse de relaxation ventriculaire et diminuent alors la part du remplissage qui survient tout au début de la diastole.
- **La phase de remplissage passif** : elle dépend de la facilité avec laquelle le ventricule se remplit, c'est à dire de sa compliance diastolique. Les modifications de la matrice extra-cellulaire sont fortement impliquées dans l'altération du remplissage passif ; la principale cause étant une anomalie du collagène fibrillaire (Covell, 1990). En effet, une modification de la densité de sa distribution, de sa topologie, de sa répartition, du rapport entre le collagène de type I et de type III, ou encore de son métabolisme, est responsable d'une dysfonction diastolique. La rigidité du VG est alors augmentée et donc la compliance réduite. Au cours du temps, ce défaut de compliance se traduit par l'élévation des pressions de remplissage du ventricule et l'apparition de signes congestifs.

1.3.3 L'insuffisance cardiaque par dysfonction systolique

Elle est caractérisée par une baisse de la force contractile du VG (défaut de raccourcissement).

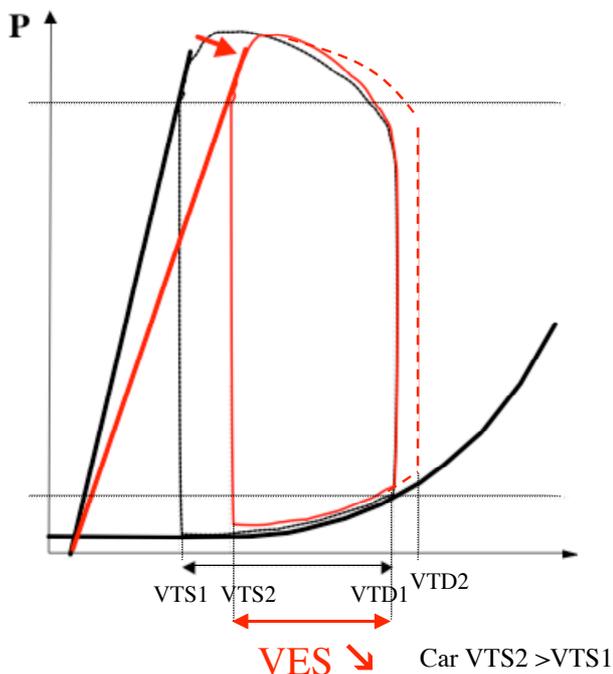


Figure 6 : Conséquences d'une baisse de contractilité sur la courbe pression/volume. VTS et VTD=Volume Télé -Systolique et -Diastolique ; VES=Volume d'Ejection Systolique.

La droite d'inotropisme est déplacée vers le bas et la droite (figure 6). Le volume télésystolique est alors augmenté (VTS2), induisant une baisse du volume d'éjection. Afin d'essayer de maintenir une même pression systolique et un même volume d'éjection, le VG se dilate par une augmentation du volume télédiastolique (VTD2, pointillés rouges). Il y a ainsi une baisse de la fraction d'éjection.

Cette diminution de la force contractile du ventricule gauche peut résulter de multiples causes, que l'on peut regrouper selon plusieurs grands mécanismes.

- La diminution du nombre de myocytes : chacun individuellement fonctionne normalement, mais l'ensemble est anormal car le nombre des myocytes est réduit. Cela peut arriver après un infarctus du myocarde ou une myocardite ; ce phénomène s'aggrave progressivement avec l'âge, car le vieillissement s'accompagne d'une perte inexorable de myocytes.
- La diminution de la force de contraction des myocytes : leur nombre est préservé, mais la force de contraction des myocytes est réduite en raison d'une pathologie. Par exemple, la cardiomyopathie alcoolique correspond à ce mécanisme.
- L'incapacité du cœur à assurer un débit suffisant face à un obstacle (rétrécissement aortique par exemple) ou une surcharge de débit (insuffisance mitrale ou aortique par exemple). Ceci implique que la chambre ventriculaire fonctionne avec des volumes très augmentés, particulièrement le volume télédiastolique, pour maintenir un volume d'éjection systolique suffisant. La dilatation cavitaire est souvent d'importance croissante.

Quel que soit le mécanisme en cause, l'altération de la fonction systolique s'accompagne d'une dilatation ventriculaire gauche (recrutement du maximum de pont actine-myosine par étirement des myosines selon la loi de Starling), ce qui permet dans un premier temps de maintenir le débit cardiaque malgré une diminution de l'état contractile.

Cependant, il n'existe pas d'IC systolique isolée : une IC systolique est toujours accompagnée d'une IC diastolique du fait d'une augmentation parallèle de la pression diastolique. La courbe P-V est alors caractérisée à la fois par une réduction de la droite d'inotropisme et par un déplacement de la courbe de compliance vers le haut.

Il y a donc présence d'une IC mixte : une IC congestive (ICC).

L'IC chronique évolue ainsi d'une IC diastolique vers une IC mixte, c'est à dire congestive. Comme cité précédemment, la cardiopathie hypertensive est une des causes majeures de l'IC chronique. C'est pourquoi nous avons porté un intérêt particulier à cette cardiopathie, à 2 stades de l'IC chronique :

- A un stade primaire: une **hypertension artérielle** (HTA) associée à une hypertrophie ventriculaire gauche (HVG) et une dysfonction diastolique sans signe clinique décelable,
- Au stade de décompensation hémodynamique et clinique de la cardiopathie hypertensive menant à une **insuffisance cardiaque congestive** (ICC).

2. LA CARDIOPATHIE HYPERTENSIVE

2.1 Définition de l'hypertension artérielle

L'hypertension artérielle touche plus de 10% de la population en France, avec un pourcentage plus élevé chez les hommes que chez les femmes non ménopausées ; après la ménopause cette différence s'estompe. Elle ne représente pas une maladie à proprement parler, mais surtout un facteur de risque vers des complications cardiovasculaires, rénales et cérébrales.

L'augmentation du risque de morbidité-mortalité est directement liée à la sévérité de l'hypertension. La Société Européenne d'Hypertension (ESH) a fixé des seuils d'hypertension, en tenant compte à la fois des risques tensionnels et des inconvénients liés aux traitements (Erdine et al., 2006).

La pression artérielle est considérée comme normale si la pression artérielle systolique est inférieure à 140 mmHg, et la pression artérielle diastolique inférieure à 90 mmHg.

Les recommandations actuelles définissent l'hypertension artérielle en 3 stades (Tableau 2).

	PRESSION SYSTOLIQUE	PRESSION DIASTOLIQUE
HYPERTENSION SÉVÈRE	> 180 mm Hg	> 110 mm Hg
HYPERTENSION MODÉRÉE	> 160 et < 180 mm Hg	> 100 et < 110 mm Hg
HYPERTENSION LIMITE	> 140 et < 160 mm Hg	> 90 et <100 mm Hg

Tableau 2 : les 3 stades de l'hypertension artérielle

NB: nous pouvons citer 2 autres formes d'hypertension ayant des seuils de pressions différentes de ceux décrits ci-dessus. L'hypertension gravidique est observée dans certains cas de grossesse et les chiffres tensionnels PAS/PAD sont >140 / >80 mmHg. L'autre forme est l'hypertension purement systolique qui se développe de plus en plus du fait d'une augmentation de l'obésité, et du vieillissement de la population ; les chiffres tensionnels PAS/PAD sont >140 / < 90 mmHg.

2.2 Les causes de l'hypertension

- Dans 95% des cas l'hypertension est dite essentielle (ou primaire) :

la cause exacte est alors inconnue. Des causes génétiques ont pu être mises en évidence dans ce type d'hypertension (Naber and Siffert, 2004).

- Dans 5% des cas, l'hypertension est dite secondaire :

Plusieurs causes peuvent en être l'origine :

- La néphropathie chronique et l'artériopathie rénale des gros troncs sont des causes d'HTA rénale. **L'hypertension artérielle réno-vasculaire** (artériopathie), caractérisée entre autres par sa sévérité, est la cause la plus importante de l'HTA secondaire. Elle peut être causée par un athérome, une fibrose ou encore un anévrisme.
- Les autres causes sont : des causes endocriniennes (exemples : phéochromocytome, syndrome de Cushing, adénome de Conn), une coarctation aortique (rétrécissement congénital), l'obésité, l'alcool, ou encore la grossesse (hypertension artérielle gravidique).

2.3 Conséquences cardiaques de l'hypertension

2.3.1 Une hypertrophie ventriculaire gauche

Différents facteurs hémodynamiques tels que l'augmentation des résistances vasculaires périphériques et de la rigidité des vaisseaux, causée par une augmentation de la pression, entraîne une augmentation de la post-charge ventriculaire gauche. Cela va alors provoquer un stress des parois ventriculaires, qui sera normalisé par le développement d'une HVG. Cette hypertrophie est caractérisée par :

- une augmentation du nombre d'unité contractile (réplication des sarcomères en parallèle),
- une augmentation du diamètre des cardiomyocytes,
- un épaississement des parois,
- une réduction du diamètre ventriculaire,
- une augmentation de la force contractile.

L'hypertrophie compensatoire est une **hypertrophie concentrique** et permet, dans un premier temps, de maintenir un débit cardiaque et une fraction d'éjection normaux. Il n'y a alors aucune altération de la fonction systolique décelable.

Cependant, la corrélation entre le degré d'hypertrophie et la pression artérielle chez l'homme reste modérée. De plus, l'hypertrophie des cardiomyocytes n'est pas la seule cause de l'HVG, il y a également le développement d'une fibrose.

Beaucoup d'autres stimuli non hémodynamiques sont aussi impliqués dans le développement de l'HVG.

Nous pouvons citer :

- un changement adaptatif d'expression génique en réponse à la surcharge. Ils peuvent se résumer à l'induction de proto-oncogènes suivie par l'expression de formes fœtales de protéines contractiles telles que la chaîne lourde β de la myosine (Izumo et al., 1987) et l'alpha-actine squelettique (Izumo et al., 1988).
- l'implication de facteurs neuro-hormonaux tels le système nerveux sympathique (SNS) par l'activation des récepteurs α - et β -adrénergiques ou le système rénine-angiotensine. Ils agissent à la fois dans le développement de l'hypertrophie des cardiomyocytes (Dahlof et al., 1992; Devereux et al., 1983; Gradman and Alfayoumi, 2006), et dans le développement d'une fibrose interstitielle et périvasculaire (Gradman and Alfayoumi, 2006). La densité de collagène interstitiel est augmentée de 40 à 150% dans l'hypertension génétique, dans les surcharges de pression et dans des modèles DOCA-sel (Janicki and Brower, 2002). Nous développerons en détail le rôle du SNS ultérieurement.

L'étude Framingham a montré que l'HVG constitue un indice de sévérité de l'HTA et un facteur pronostique des risques cardiovasculaires (Kannel, 1991). L'hypertrophie des cardiomyocytes et l'augmentation de la densité de collagène ont de fortes répercussions sur la fonction cardiaque, à la fois systolique et diastolique.

2.3.2 Une dysfonction diastolique

Comme cité précédemment, la fonction diastolique est influencée par la masse, la géométrie et la composition du myocarde. Dans l'HTA, ces différents paramètres sont modifiés, ce qui induit donc une dysfonction diastolique.

Dans un premier temps, une altération de la relaxation du myocarde est une anomalie primaire de cette dysfonction dans l'HTA. Il a été montré que la surcharge de pression diminue l'activité de l'ATPase et le taux d'ARNm codant pour la calcium ATPase du réticulum sarcoplasmique (de la Bastie et al., 1990). Ceci aboutit ainsi à la diminution de la recapture du calcium par le réticulum sarcoplasmique et induit alors une altération de la relaxation. L'anomalie de la recapture a également été décrite sur des myocytes de rats hypertendus (Carvalho et al., 2006). Donc le premier stade de l'HTA est un trouble primaire de relaxation.

Dans un deuxième temps, la présence d'une fibrose consécutive à une augmentation de collagène est le facteur essentiel dans le développement d'une insuffisance cardiaque diastolique (Janicki and Brower, 2002).

Le collagène a en effet des conséquences sur la taille et l'armature des chambres cardiaques. L'augmentation de la concentration de collagène peut être la conséquence de 3 phénomènes : une augmentation de la synthèse de collagène, un déséquilibre entre sa synthèse et sa dégradation par les métallo-protéinases, et une prolifération des fibroblastes (Weber et al., 1994). En outre, la matrice extracellulaire contient 2 types de collagènes : le collagène I et III. Dans le développement d'une fibrose, la synthèse du collagène I prédomine, or celui-ci a un rôle majeur dans la rigidification du tissu (Nishikawa et al., 2001).

Ainsi, l'augmentation de la densité de collagène autour des myocytes et de l'aire occupée par le collagène périvasculaire observée dans l'HTA, est associée à une augmentation de la rigidité du VG. Une corrélation positive entre cette rigidité et la concentration du collagène chez les primates (Weber et al., 1988) et dans différents modèles de rats (Doering et al., 1988; Jalil et al., 1989) a pu être montrée. Cette rigidification induit une baisse de la compliance de la chambre ventriculaire donc de son remplissage (Janicki and Brower, 2002). Le rôle crucial du collagène dans la baisse de compliance a été souligné par le fait que les athlètes développent également une HVG, mais sans développement d'une fibrose et sans dysfonction diastolique, la compliance est alors normale (Shapiro and McKenna, 1984; Toraa et al., 1999).

L'HTA est donc accompagnée d'une dysfonction diastolique, caractérisée par un trouble de relaxation et une altération de la compliance, pouvant entraîner une augmentation des pressions de remplissage.

2.3.3 Une fonction systolique préservée

Le collagène est également impliqué dans la fonction systolique (Weber et al., 1994). Il contribue à l'éjection du sang par son implication dans la coordination de la transmission de la force générée par les myocytes vers la chambre du VG. Dans l'HTA compensée, l'augmentation de la concentration du collagène interstitiel n'altère pas la fonction systolique ; au contraire, la force contractile est souvent augmentée (Janicki and Brower, 2002).

Au repos, la fonction systolique n'est pas altérée. Cependant, un risque d'ischémie, se répercutant sur la contractilité ventriculaire a été montré lors d'un stress ou d'un effort (Mundhenke et al., 1997; Pingitore et al., 2001; Sasaki et al., 2000). Cela est dû à une hypoperfusion sous-endocardique.

2.3.4 Une hypoperfusion sous-endocardique

La vascularisation du myocarde se fait de l'épicarde avec les artères coronaires vers l'endocarde avec le système capillaire. Dans l'HTA, le débit coronaire est affecté à la fois par l'HVG associée à l'HTA et par des facteurs vasoconstricteurs :

- conséquences de l'HVG : la compression extravasculaire des petites artères coronaires et des artérioles altère la dilatation des vaisseaux. Par ailleurs, l'augmentation de la taille des cardiomyocytes réduit la densité des capillaires et augmente la distance inter-capillaire, augmentant alors le temps de diffusion de l'O₂. Ainsi, plus on se dirige vers l'endocarde, plus la vascularisation est affectée du fait de la petite taille des artères.
- implication de facteurs vasoconstricteurs : des facteurs tels que l'Ang II, les catécholamines ou l'endothéline stimulent la croissance des cellules musculaires lisses et augmentent la synthèse de collagène périvasculaire (Mundhenke et al., 1997; Schwartzkopff et al., 1995). Ces deux phénomènes induisent une hypertrophie de la média des artérioles, conduisant à une augmentation de la

résistance vasculaire coronaire et donc à une baisse de la capacité des vaisseaux à se dilater (Isoyama et al., 1992).

Plus on se dirige vers l'endocarde, plus l'altération du système vasculaire du myocarde est amplifiée, du fait d'une baisse du débit sanguin dans les capillaires. Il y a alors présence d'une hypoperfusion terminale de l'endocarde qui est responsable d'une augmentation importante des risques d'ischémie et de nécrose sous-endocardique chez des patients hypertendus présentant une HVG, particulièrement lors d'efforts ou de stress qui induisent une demande accrue en oxygène (Mundhenke et al., 1997; Pingitore et al., 2001; Sasaki et al., 2000).

2.4 Evolution vers la dysfonction ventriculaire mixte :

l'insuffisance cardiaque congestive

Durant plusieurs années, le remodelage myocardique est compensatoire afin de lutter contre l'augmentation de pression chronique. La cardiopathie hypertensive est une cause fréquente d'IC diastolique, mais à terme, elle évolue vers une ICC. Cette dernière se définit comme l'incapacité du ventricule gauche à assurer un débit adapté aux besoins vitaux de l'organisme dans toutes les circonstances de la vie courante.

2.4.1 Evolution de l'hypertrophie ventriculaire gauche

En fait, l'HVG concentrique va peu à peu évoluer vers le développement d'une HVG dite **excentrique** (donc de décompensation). Cette hypertrophie est observée lors d'une surcharge de volume. Cette transition d'un stade compensé vers un stade décompensé peut être expliquée par :

- une modification de la géométrie des cardiomyocytes
- une dégradation du collagène

La surcharge de pression pendant la phase compensatoire induit une augmentation du diamètre des cardiomyocytes (développement de sarcomères en parallèle et donc augmentation de contractilité), mais avec le temps il y a un allongement des cardiomyocytes (développement des sarcomères en série). Cet allongement induit alors une dilatation du VG,

associée à une augmentation de volume du VG, et laisse apparaître des signes d'insuffisance cardiaque. Cette transition a été observée dans des études faites chez le rat SHHF (Tamura et al., 1998) et chez les rats de Dahl sensibles au sel (Inoko et al., 1994). Donc l'allongement des cardiomyocytes est un événement critique primaire de la transition vers une décompensation cardiaque (Gerdes, 2002).

En outre, le collagène joue un rôle dans l'alignement des cardiomyocytes. Ainsi, la dilatation de la chambre ventriculaire avec le passage d'une forme ellipsoïde normale du ventricule vers une forme sphérique serait due à une dégradation du collagène. Une augmentation de l'activité de collagénase a été décrite chez des patients présentant une cardiopathie dilatée (Gunja-Smith et al., 1996). De plus, le Hamster Syrien développe une augmentation progressive du diamètre ventriculaire aboutissant à une ICC, et une étude a montré qu'une baisse de la concentration de collagène, suite à une augmentation de la synthèse des métalloprotéinases de la matrice, coïncidait avec le début de la dilatation du VG (Gertz, 1972).

2.4.2 IC systolique

L'étirement des cardiomyocytes a pour conséquence une diminution de la force contractile du myocarde selon la loi de Frank et Starling (l'étirement des cellules entraîne un défaut de coaptation des fibres d'actine et de myosine). De plus, la baisse de la contractilité est expliquée par une baisse de la libération et de la recapture du Ca^{2+} ; la synthèse de diverses protéines du réticulum sarcoplasmique est altérée. La dilatation ventriculaire, accompagnée d'une augmentation de la fréquence cardiaque permet initialement un maintien du débit cardiaque malgré la baisse de contractilité. Mais cette adaptation devient insuffisante et il s'en suit une réduction des fractions d'éjection et de raccourcissement, et une baisse du débit cardiaque entraînant une redistribution des circulations locales au profit du cœur et du cerveau, au détriment des territoires musculaire, cutané, splanchnique, et rénal.

2.4.3 IC diastolique

La fibrose développée lors de l'HTA induit à long terme une augmentation progressive des pressions de remplissage du VG, en plus du trouble de relaxation.

Au stade d'ICC, divers facteurs externes sont en plus impliqués dans l'altération de la fonction diastolique. En amont du VG, la pression s'élève dans l'OG induisant une dilatation de cette cavité. Les fonctions auriculaires systolique et diastolique sont alors altérées, réduisant encore le remplissage du VG.

La pression s'élève également dans les capillaires pulmonaires, et au-dessus d'un certain seuil, il se produit une exsudation liquidienne du capillaire vers les structures pulmonaires, d'abord l'interstitium puis les alvéoles eux-mêmes. C'est cette surcharge liquidienne qui explique la dyspnée. Cette élévation de pression se transmet de proche en proche, et entraîne secondairement une augmentation du travail du ventricule droit. Cela va alors induire une rétention hydrosodée, responsable des signes cliniques de congestion (Grossman, 1991).

2.4.4 Signes cliniques associés

➤ *Une tachycardie*

C'est le signe clinique le plus fréquent. L'augmentation de la fréquence cardiaque a en premier lieu pour objectif de maintenir un débit cardiaque normal, ce dernier étant réduit par la baisse de la contractilité et l'augmentation des pressions de remplissage. Mais cette tachycardie est responsable à long terme de l'aggravation de la pathologie ; la tachycardie induit une augmentation de consommation d'oxygène et réduit le temps de relaxation myocardique et le remplissage ventriculaire (Shinke et al., 1999). De plus, la tachycardie est une forte cause d'arythmie et de mort subite.

➤ *Une dyspnée*

L'apparition de la dyspnée représente un tournant évolutif de la pathologie. La classification de la NYHA (New York Heart Association) permet de quantifier de manière semi-quantitative le niveau de sévérité ; elle reste la classification la plus utilisée (tableau 3).

CLASSE I	Aucune limitation d'effort : patient ayant une cardiopathie mais se disant asymptomatique
CLASSE II	Limitation modeste de l'activité : la dyspnée apparaît pour les efforts les plus importants de la vie quotidienne.
CLASSE III	Réduction marquée de l'activité : pas de dyspnée au repos mais gêne pour les efforts les plus courants
CLASSE IV	Gêne au moindre effort et présence d'une dyspnée de repos

Tableau 3 : Classification de la NYHA des stades de sévérité en fonction du niveau de gêne fonctionnelle.

➤ *Autres signes physiques*

- Un oedème pulmonaire (épanchement pleural), dû à l'augmentation des pressions pulmonaires.
- Des œdèmes périphériques mous, avec signe du godet positif, des épanchements péricardiques, une ascite, parfois un ictère témoignant du retentissement hépatique de la défaillance cardiaque.

3. EVALUATION DE LA FONCTION CARDIAQUE

Il existe différentes techniques : l'échocardiographie, le cathétérisme, l'angiographie ventriculaire gauche ou encore la coronarographie et l'imagerie par résonance magnétique (IRM). Dans notre travail, nous n'avons utilisé que les deux premières techniques citées. La coronarographie et l'angiographie sont des techniques invasives utilisées pour l'exploration des vaisseaux. Dans notre étude n'avons pas porté d'intérêt spécifique sur le système vasculaire cardiaque donc ces techniques ne nous ont pas été nécessaires. Par contre, L'IRM cardiaque est une technique non invasive, et permet une analyse segmentaire précise des malformations cardiaques diverses permettant une bonne évaluation de la fonction cardiaque. Cependant, cette technique est très onéreuse, pas très répandue pour des analyses chez l'animal et, contrairement à l'échocardiographie, pour toute étude pré-clinique, il est nécessaire d'anesthésier l'animal, ce qui influence beaucoup les paramètres. Donc dans cette partie, nous ne décrivons que l'évaluation des fonctions systolique et diastolique, et de la

morphologie cardiaque, réalisée par échocardiographie et cathétérisme ventriculaire gauche (Abergel and Habib, 2003; Mottram and Marwick, 2005). L'ensemble des paramètres que nous allons décrire est mesurable chez l'Homme ou encore des animaux d'une certaine taille, tels que le chien ou le lapin. Par contre, ces mesures ne sont pas toutes possibles chez des animaux tels que le rat ou la souris.

3.1 L'échocardiographie

Cela reste l'examen de loin le plus utilisé dans l'évaluation de la fonction cardiaque. Son caractère non-invasif lui confère un avantage important comparé au cathétérisme cardiaque. Il est répétable, il peut être réalisé chez l'animal dans un état conscient, et n'induit aucun stress et aucune douleur.

3.1.1 Evaluation structurale du ventricule gauche

L'échocardiographie en mode TM (Temps-Mouvement) permet l'obtention des diamètres du VG (diamètre télédiastolique, DTD et diamètre télésystolique, DTS), et de l'épaisseur des parois ventriculaires, mesurés en petit axe et grand axe. La mesure de l'épaisseur du septum et de la paroi postérieure dans la coupe grand axe permet d'évaluer la masse ventriculaire gauche par une équation : $mVG = 0,8 * (1,04 * [(PW+S+EDD)^3 - EDD^3]) + 0,6$, décrite dans l'étude de Devereux RB et al. (Devereux et al., 1986).

Le calcul de l'épaisseur relative des parois (ERP) permet de déterminer le type d'hypertrophie observée. S'il y a une augmentation de la masse du VG sans modification ou avec une baisse de l'ERP, l'HVG est excentrique. Par contre, une augmentation des 2 paramètres démontre une HVG concentrique.

Chez un sujet normal, l'ERP est inférieure à 45 ; chez un sujet hypertendu présentant une HVG concentrique, l'ERP est supérieure à 45 et le rapport masse VG/poids corporel est augmenté ; chez un patient en ICC présentant une HVG excentrique, l'ERP est bien inférieure à 45 mais la masse VG est fortement augmentée (Aurigemma et al., 1995).

3.1.2 Evaluation de la fonction systolique

La fraction de raccourcissement (FR) est le rapport de la différence des DTD et DTS sur le DTD ($FR=(DTD-DTS/DTD)*100$). La fraction d'éjection (FE) est calculée à partir des volumes, elle est égale au rapport de la différence des volumes télédiastolique et –systolique sur le volume télédiastolique ($FE=(VTD-VTS/VTD*100)$). Les surfaces du VG permettent d'évaluer les volumes ventriculaires et le calcul de la FE est automatiquement réalisé par un logiciel intégré à l'échocardiographe, à partir des formules mathématiques de modélisation. Les FE et FR se mesurent au niveau de la base du VG, ce qui suppose que la contraction est homogène. Lors d'anomalie de la cinétique segmentaire, la FR et la FE ne sont plus corrélées. Par ailleurs, la FR est souvent sur-évaluée dans l'HTA du fait de l'HVG. Un troisième paramètre intéressant reflétant la contractilité, et qui est de plus en plus utilisé, est la fraction de raccourcissement à mi-paroi (FRmd). L'évaluation de cette FR détermine la contractilité des fibres myocardiques circonférentielles, et permet ainsi une meilleure évaluation globale de la fonction systolique (Aurigemma et al., 1995; de Simone et al., 1999; Shimizu et al., 1991). De plus, ce paramètre est positivement corrélé avec le flux sanguin coronaire. Il permet de détecter la présence d'une ischémie myocardique (Sasaki et al., 2000).

Le débit cardiaque est un paramètre important, c'est le volume de sang expulsé par le ventricule par unité de temps. Il peut être calculé par différentes méthodes (le principe de Fick via la quantité d'O₂ transportée, la méthode de Stewart-Hamilton via la courbe de dilution d'un colorant, l'échocardiographie-Doppler) mais ces méthodes sont toutes indirectes et ne permettent donc qu'une approximation du débit. Cependant, elles reflètent fidèlement les changements de celui-ci et sont relativement bien corrélées. Par échocardiographie, le débit Q est mesuré en tenant compte de la surface de section S d'un conduit et de la vitesse V d'un fluide ($Q=S \times V$). Ainsi, le diamètre de l'anneau aortique est mesuré au niveau de la chambre de chasse ventriculaire gauche en incidence parasternale gauche, et au niveau de la portion ascendant de l'aorte, un capteur à effet Doppler est installé sur la partie sus-sternale en incidence 5 cavités, afin de mesurer l'intégrale temps-vitesse du flux sous-aortique.

Les différents paramètres systoliques sont équivalents entre un sujet normal et un sujet hypertendu au repos. Cependant, lors d'un effort ou d'un état de stress, la FRmd est réduite,

du fait de l'hypoperfusion sous-endocardique observée dans l'hypertension, engendrant un risque d'ischémie sous-endocardique (Pingitore et al., 2001).

Par contre, chez le patient en ICC, tous ces paramètres sont réduits : on estime qu'il y a une insuffisance systolique lorsque la FE est inférieure à 40%, et le patient est à un stade critique lorsque cette valeur est inférieure à 20%.

3.1.3 Evaluation de la fonction diastolique

3.1.3.1 *Les différents paramètres*

Les méthodes utilisées pour estimer les pressions de remplissage du VG sont l'analyse du flux transmitral, l'étude du flux veineux pulmonaire, la mesure de la vitesse de propagation du flux de remplissage ventriculaire gauche en TM couleur (V_p) et la mesure de la vitesse de déplacement diastolique de l'anneau mitral en Doppler tissulaire (DTI). L'association de ces méthodes permet de calculer des indices combinés (Garcia et al., 1998; Mottram and Marwick, 2005).

3.1.3.1.1 Le flux transmitral

Ce flux est le plus mesuré dans l'évaluation de la fonction diastolique (Ommen, 2001). Il est enregistré en Doppler pulsé à l'extrémité des feuillets mitraux, hormis pour la mesure de la durée de l'onde A qui est plus précisément mesurée en déplaçant légèrement le volume de mesure vers l'anneau mitral. Le spectre se compose de 2 ondes : l'onde E correspondant au remplissage passif du VG et l'onde A correspondant au remplissage du VG secondaire à la systole auriculaire (figure 7). Les différents paramètres mesurables sont : le temps de relaxation isovolumique (TRIV) entre la fermeture des sigmoïdes aortiques et l'ouverture de la valve mitrale, la vitesse des ondes E et A donc le rapport E/A, la durée de l'onde A (DurA) et le temps de décélération de l'onde E (TDE). La moyenne de plusieurs mesures est souhaitable pour chacun de ces paramètres, notamment pour le TDE qui est moins reproductible. Cette mesure est limitée car elle est dépendante du gradient instantané de pression entre l'OG et le VG pendant la diastole, donc elle dépend de la précharge. De plus une fréquence cardiaque rapide peut entraîner une fusion des ondes E et A.

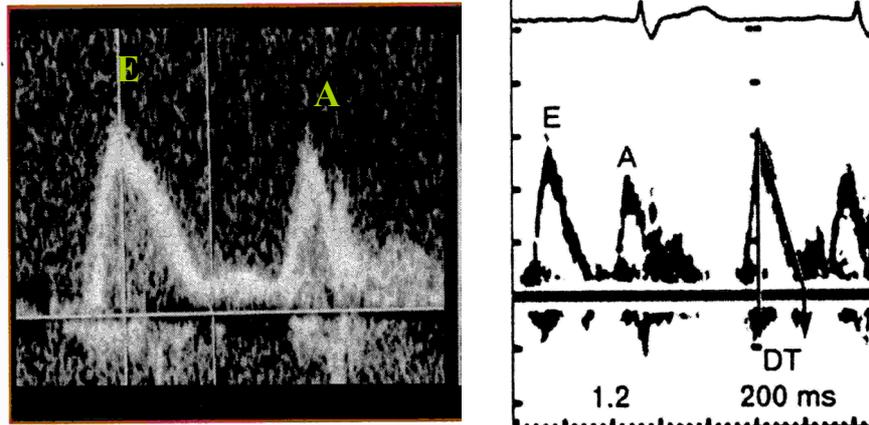


Figure 7 : Flux transmitral d'un sujet normotendu (DT=temps de décélération) (The Echo Manual, JK Oh, JB Seward, A Jamil Tajik ; Gallet, 2003).

3.1.3.1.2 Le flux veineux pulmonaire

L'enregistrement est effectué à partir d'une coupe apicale 4 cavités en repérant le flux de la veine pulmonaire supérieure droite ou gauche par Doppler couleur. Ce flux comprend 2 ondes positives, les ondes S (remplissage de l'OG pendant la systole ventriculaire) et D (remplissage de l'OG pendant la diastole ventriculaire) et une onde négative de reflux A correspondant à la systole auriculaire (Ar) (figure 8). Les paramètres analysés sont l'amplitude des différentes ondes avec le calcul du rapport S/D et la durée de l'onde Ar (DurAr) (Garcia et al., 1998; Rossvoll and Hatle, 1993).

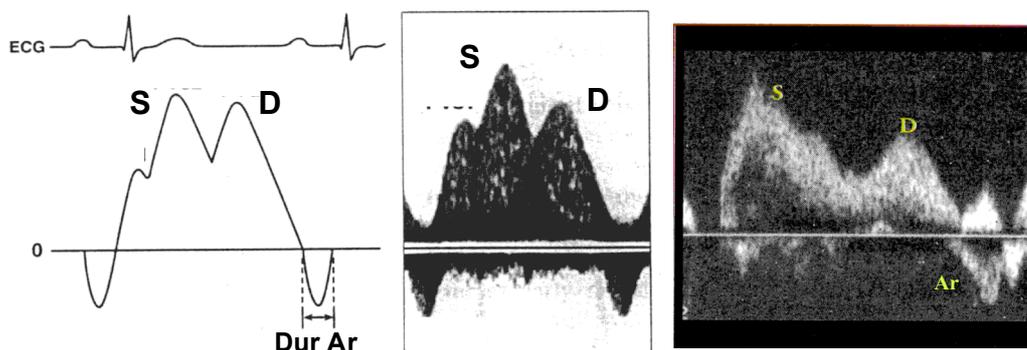


Figure 8 : Flux pulmonaire chez un patient normotendu (The Echo Manual, JK Oh, JB Seward, A Jamil Tajik, Gallet, 2003).

3.1.3.1.3 Le Doppler tissulaire de l'anneau mitral (DTI)

La vitesse de relaxation mesurée en Doppler tissulaire est moins dépendante des conditions de précharge que ne l'est le flux transmitral. Cette vitesse reflète mieux les qualités intrinsèques du muscle cardiaque. Le mode DTI permet de mesurer le déplacement de l'anneau mitral durant le cycle cardiaque. Cet anneau subit trois déplacements : un déplacement vers l'apex lors de la contraction ventriculaire formant la composante systolique (Sa), et deux déplacements vers l'OG lors du remplissage formant les composantes proto- (Ea) et télé-diastolique (Aa) (figure 9). La vitesse de déplacement de l'anneau reflète l'allongement des fibres myocardiques dans le plan longitudinal et Ea est un bon indicateur de l'état de la relaxation ventriculaire. L'enregistrement est réalisé au niveau de l'anneau mitral en coupe apicale, en positionnant le volume de mesure au niveau du septum ou de la paroi latérale (Sohn et al., 1997). La mesure septale du DTI a été décrite comme préférentielle dans une étude antérieure (Sohn et al., 1997). De ce côté, l'anneau se déplace plus parallèlement à la fenêtre acoustique, et le mouvement est moins affecté par les mouvements translationnels du cœur. Ainsi, bien que le mouvement soit influencé par les déplacements du ventricule droit, la mesure du côté septal est plus reproductible.

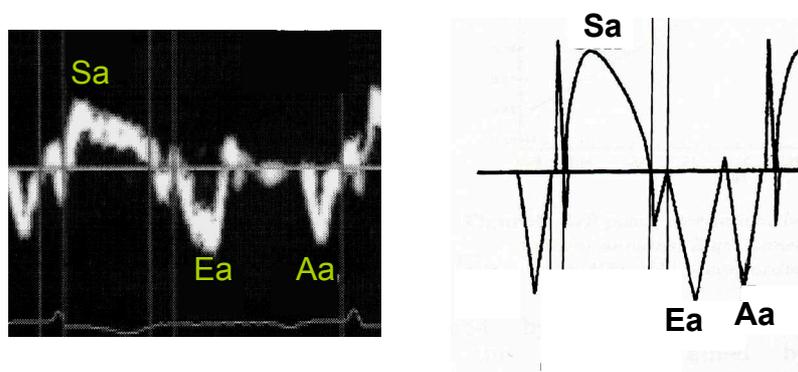


Figure 9 : Doppler tissulaire de l'anneau mitral chez un patient normotendu (Naqvi, 2003; Tekten et al., 2003).

3.1.3.1.4 Le remplissage ventriculaire gauche en TM couleur

Nous serons bref sur ce paramètre car, bien qu'utilisé chez l'homme, il a été difficile d'avoir des mesures homogènes dans nos études. La vitesse de propagation du flux correspond à la pente d'une ligne d'isovitesse en TM couleur et est mesurée en protodiastole (Figure 10). Il

s'agit d'un indice de relaxation dont l'intérêt est d'être peu dépendant de la charge. Ainsi la V_p est réduite en cas de relaxation anormale (baisse de la pente).

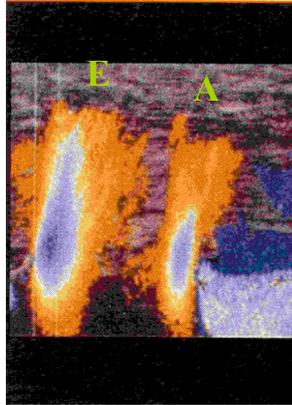


Figure 10 : Remplissage ventriculaire gauche en TM couleur chez un patient normotendu.

3.1.3.1.5 Les indices combinés

Ils sont au nombre de 3 et comportent le rapport E/E_a , la différence de durée des ondes A pulmonaire et mitrale ($Dur(Ar-A)$) et le rapport E/V_p . Une étude clinique a montré une corrélation positive entre ces paramètres et les pressions de remplissage (Arques, 2003).

3.1.3.2 Les différents profils du remplissage ventriculaire gauche.

On distingue 3 grands types d'altérations du remplissage : l'anomalie de relaxation (stade I), le remplissage pseudo-normal (stade II) et le remplissage restrictif (stade III) (Mottram and Marwick, 2005) (figure 11).

Ces 3 types peuvent se succéder au cours d'une cardiopathie. Ils correspondent à une gravité croissante et s'accompagnent d'une augmentation des pressions de remplissage et d'une aggravation des symptômes d'un stade à l'autre. L'adjonction d'un stade IV, défini par un remplissage restrictif irréversible sous traitement, a été proposée par Nishimura et al. (Nishimura and Tajik, 1997).

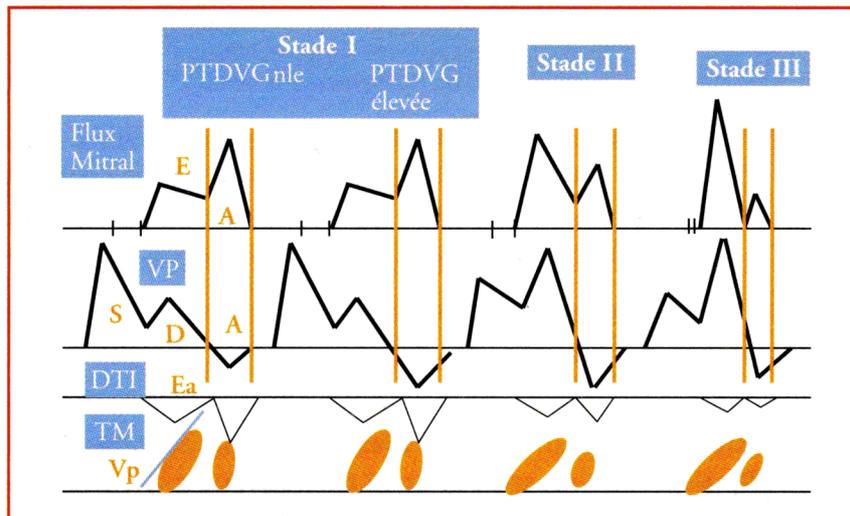


Figure 11 : Les profils anormaux du remplissage ventriculaire gauche. PTDVG=pression télé-diastolique ventriculaire gauche ; VP=flux veineux pulmonaire ; DTI=Doppler tissulaire à l'anneau mitral ; TM=remplissage ventriculaire gauche en TM couleur.

Stade I : Le trouble de relaxation est caractérisé par une réduction de l'onde E et donc du rapport E/A, et une augmentation du TRIV et du TDE. Le pronostic est confirmé par une réduction de l'onde D du flux pulmonaire et donc une augmentation du rapport S/D. De plus, il y a inversion du rapport Ea/Aa. A ce stade, la pression diastolique pré-A est normale, mais la pression télé-diastolique du VG peut être augmentée. Cette augmentation est mise en évidence par une augmentation de l'amplitude de Ar et donc une augmentation du paramètre Dur(Ar-A).

Dans l'hypertension artérielle, on observe classiquement une dysfonction diastolique au stade I, c'est à dire avec un trouble du remplissage. Lorsque l'hypertension est modérée, ce trouble n'est pas accompagné d'augmentation des pressions de remplissage. Cependant, une augmentation peut être observée dans une HTA plus sévère et peut alors évoluer vers une dysfonction de stade II.

Stade II : Le remplissage pseudo-normal est caractérisé par l'association d'une anomalie de relaxation et d'une élévation des pressions de remplissage « normalisant » le flux transmitral. Le diagnostic est affirmé, devant un flux transmitral d'aspect normal, en démontrant qu'il existe, soit une anomalie de relaxation sous-jacente, soit une élévation des pressions de remplissage. L'anomalie de relaxation peut être mise en évidence par une diminution de Ea et donc du rapport Ea/Aa qui est alors inférieur à 1. Une élévation des pressions de remplissages

peut être caractérisée par une augmentation des indices combinés Ea/E et $Dur(Ar-A)$ et par une réduction du rapport S/D avec une baisse de S et une augmentation de D .

Stade III : Le remplissage restrictif est caractérisé au niveau mitral par un rapport $E/A > 2$, une réduction importante du TDE et du TRIV. Les augmentations des pressions de remplissage sont encore observées par le rapport $S/D < 1$ (baisse de S et élévation de D), l'augmentation de la $Dur(Ar-A)$ et l'augmentation du rapport Ea/E . Le simple aspect restrictif du flux transmitral suffit à mettre en évidence une élévation des pressions de remplissage chez les patients ayant une dysfonction systolique du VG.

La dysfonction diastolique présente **dans l'insuffisance cardiaque congestive** se situe au stade III voire IV.

3.2 Le cathétérisme ventriculaire gauche

Une exploration invasive n'est pas forcément nécessaire du fait de la fiabilité des techniques non-invasives. Le cathéterisme n'est utile que dans certaines polyvalvulopathies chez l'Homme et lors d'études effectuées chez l'animal afin de pouvoir confirmer les résultats.

3.2.3 Evaluation de la fonction systolique

Le premier paramètre systolique mesurable par cathéterisme est le pic de pression systolique. Plus ce pic est élevé, meilleure est l'éjection de sang vers l'aorte. Ce pic dépend à la fois de la précharge, de la postcharge et de la fréquence cardiaque (FC).

Un deuxième indice largement utilisé est le pic maximum de la dérivée première de la pression intraventriculaire (dP/dt_{max}). Le dP/dt_{max} survient normalement au cours de la contraction isovolumique (indice pré-éjectionnel) et est donc peu influencé par la postcharge, la valve aortique étant alors fermée. Par contre, il est très dépendant de la précharge et de la FC (renforcement positif lorsque l'un des deux ou les deux paramètres augmentent) ; il ne doit donc pas être considéré comme un indice pur de contractilité. De plus, certaines conditions physiopathologiques sont susceptibles d'en faire un indice éjectionnel, en retardant le moment de la survenue du dP/dt_{max} comme c'est le cas dans l'ICC. Idéalement, la mesure

de la pression ventriculaire gauche (PVG) devrait se faire par l'intermédiaire d'un micromanomètre monté en extrémité de cathéter (type Millar®). En effet, le cathéter utilisant la méthode de la colonne d'eau avec capteur de pression externe, a un certain amortissement rendant aléatoire la mesure des variations rapides de pression et retarde l'enregistrement de la PVG.

3.2.4 Evaluation de la fonction diastolique

A l'instar du dP/dt_{max} , le dP/dt_{min} (ou $-dP/dt$) caractérise la chute de la PVG pendant la diastole. Il survient habituellement au moment de la fermeture aortique ou juste après celle-ci ; c'est donc un indice de relaxation active qui dépend des conditions de charge et de la FC. Les valeurs normales sont de l'ordre de celles du dP/dt_{max} (en négatif) avec également une déviation standard importante.

La constante τ de relaxation est un deuxième indice diastolique, il permet de caractériser la relaxation active protodiastolique. En effet, après la survenue du dP/dt_{min} , la chute des PVG se fait selon une décroissance exponentielle pendant le reste de la relaxation isovolumique. Cette décroissance admet pour équation : $P = P_0 e^{-t/\tau} + P_b$ (où P_0 est la PVG au moment du dP/dt_{min} , et P_b serait la pression asymptotique en l'absence du remplissage ventriculaire lorsque τ tend vers l'infini). La constante τ se calcule pendant la phase de relaxation isovolumique sur la courbe pression/volume. Elle est positivement corrélée au TDE et au TRIV. Un allongement de τ correspond à une dégradation de la fonction diastolique lors de la phase de relaxation.

3.3 Conclusion

La plupart des indices utilisés en pratique pour apprécier les fonctions systolique et diastolique du VG sont dépendants des conditions de charge et de la FC et aucun d'entre eux ne permet de mesurer isolément la contractilité ou la relaxation. Quel que soit l'indice de fonction choisi, il faut donc garder un regard critique quant à la méthodologie, et interpréter le résultat des mesures itératives en fonction des conditions de charge et de la FC.

4. REGULATION DE LA FONCTION CARDIAQUE :

LE SYSTEME NERVEUX SYMPATHIQUE

Il existe un grand nombre de systèmes régulateurs de la fonction cardiaque et de la pression artérielle :

- des facteurs aux propriétés vasoconstrictrices tels que le système nerveux sympathique (SNS), le système rénine-angiotensine (SRA) et l'endothéline ;
- des facteurs aux propriétés vasodilatatrices tels que les facteurs natriurétiques (ANP et BNP) ou le monoxyde d'azote (NO).

Dans cette partie, nous nous intéresserons uniquement au rôle du SNS, car toute notre étude vise à évaluer les effets des inhibiteurs sympathiques sur la fonction cardiaque dans un modèle de cardiopathie hypertensive. Nous avons donc développé le rôle du SNS dans la fonction et les pathologies cardiaques, et les différents traitements ciblant ce système.

4.1 Organisation du système

4.1.1 Structures centrales

Le système nerveux sympathique et le système nerveux parasympathique (SNP) sont les deux composants du système nerveux autonome (SNA). Ces systèmes régulent les fonctions des différents organes dont la régulation cardiovasculaire avec le mécanisme de balance sympatho-vagale. Le SNS régule en particulier le fonctionnement du cœur et des vaisseaux et le niveau de la pression artérielle. Il prend naissance dans les centres bulbaire d'où partent des fibres pré-ganglionnaires qui sortent du tronc cérébral et de la moelle épinière. Ces fibres aboutissent aux ganglions para et pré-vertébraux de chaque côté de la moelle épinière ou à la médullosurrénale, qui synthétise et libère de l'adrénaline et de la noradrénaline (NA). Les informations périphériques sur le niveau de pression artérielle parviennent aux centres par des fibres issues des barorécepteurs aortiques et carotidiens qui, via le noyau du faisceau solitaire, vont exercer une inhibition de l'activité des centres sympathiques et stimuler le centre du système parasympathique. Il y a alors une boucle baroreflexe qui permet au SNA de répondre rapidement à toute variation de la pression artérielle. En tant qu'exemple de cette balance sympatho-vagale, une augmentation de la pression entraîne une activation du SNP et une

inhibition du SNS de façon à rétablir une pression artérielle normale. Les résistances vasculaires périphériques sont alors réduites et le rythme cardiaque est ralenti. L'inverse se produit lors d'une baisse de pression artérielle (figure 12).

Les voies cardiovasculaires centrales sont ainsi constituées de 4 classes de neurones (Dampney, 1994) :

- Les neurones prémoteurs
- Les neurones moteurs préganglionnaires (vagueux et sympathiques)
- Les interneurons qui font le lien entre les afférences ou les centres supérieurs et les neurones préganglionnaires
- Les neurones afférents qui transmettent les informations issues des récepteurs périphériques via le noyau du faisceau solitaire.

4.1.1.1 Les neurones prémoteurs

Ils sont regroupés dans de nombreuses structures bulbaires et hypothalamiques : la région rostro-ventro-latérale du bulbe (RVLM), la région rostro-ventromédiale du bulbe rachidien, le noyau raphé caudal, le groupe des cellules noradrénergiques A5 et le noyau paraventriculaire (NPV). On retrouve également ce type de neurones dans d'autres régions telles que la zona incerta, l'aire hypothalamique latérale ou la substance grise périaqueducale).

Nous nous attarderons sur le RVLM et le NPV.

➤ RVLM

Ce noyau joue un rôle majeur dans la régulation tonique et phasique de la pression artérielle. La stimulation de cette structure entraîne des effets uniquement cardiovasculaires comme la tachycardie et l'hypertension. Plusieurs types de neurotransmetteurs sont associés dans ces neurones mais le glutamate semble être le neuromédiateur principal.

➤ NPV

Cette structure est localisée dans la paroi du 3^{ème} ventricule et constitue l'une des sources principale de neurones se projetant sur les corps cellulaires des neurones moteurs préganglionnaires du SNA. Les neurones du NPV régulent l'activité de structures sous-jacentes comme le RVLM et le noyau du faisceau solitaire (NFS) par des projections

glutamatergiques et GABAergiques (Fulwiler and Saper, 1984). La stimulation de cette structure induit une augmentation de l'activité sympathique et donc de la fréquence cardiaque, de la pression artérielle et de l'inotropisme cardiaque (Tibirica et al., 1993).

4.1.1.2 Les neurones moteurs préganglionnaires

Les neurones du système vagal sont des neurones cholinergiques, dont les corps cellulaires sont localisés dans le bulbe rachidien, essentiellement au niveau du noyau ambigu (Izzo et al., 1993).

Les neurones du système sympathique sont également cholinergiques et se répartissent sur toute la hauteur de la moelle épinière thoracique et lombaire en 4 groupes de corps cellulaires, la colonne intermédiolatérale (IML) étant le corps principal.

4.1.1.3 Les neurones afférents

Ils sont issus de structures localisées dans les parois vasculaires et cardiaques. Ces structures sont les barorécepteurs et les chémorécepteurs cardiaques qui se projettent toutes sur le NFS, centre principal d'intégration de ces afférences.

Les barorécepteurs sont le point de départ de l'arc baroréflexe, qui permet de maintenir une pression artérielle et une fréquence cardiaque normale. Ces barorécepteurs se divisent en 2 groupes : les barorécepteurs cardiaques dont les nerfs transitent par le nerf vague, ils sont situés dans la paroi des oreillettes et des ventricules, et les barorécepteurs vasculaires situés sur la crosse aortique et le sinus carotidien. Une augmentation de la pression artérielle va ainsi activer ces barorécepteurs qui induisent une baisse des résistances périphériques (baroréflexe vasomoteur) et une bradycardie (baroréflexe cardiaque).

Les chémorécepteurs cardiaques sont colocalisés avec les barorécepteurs cardiaques, et les chémorécepteurs vasculaires sont situés dans le sinus carotidien.

Quelles que soient leurs origines, les afférences se terminent toutes sur le NFS, chaque type d'afférence ayant une terminaison spécifique dans le NFS (Donoghue et al., 1984).

Le NFS projette des axones vers le noyau caudal ventrolatéral du bulbe (CVLM). Le CVLM contient des neurones GABAergique et une activation de cette structure va alors induire une inhibition de la région vasopressive le RVLM (Dampney et al., 1987) (figure 12).

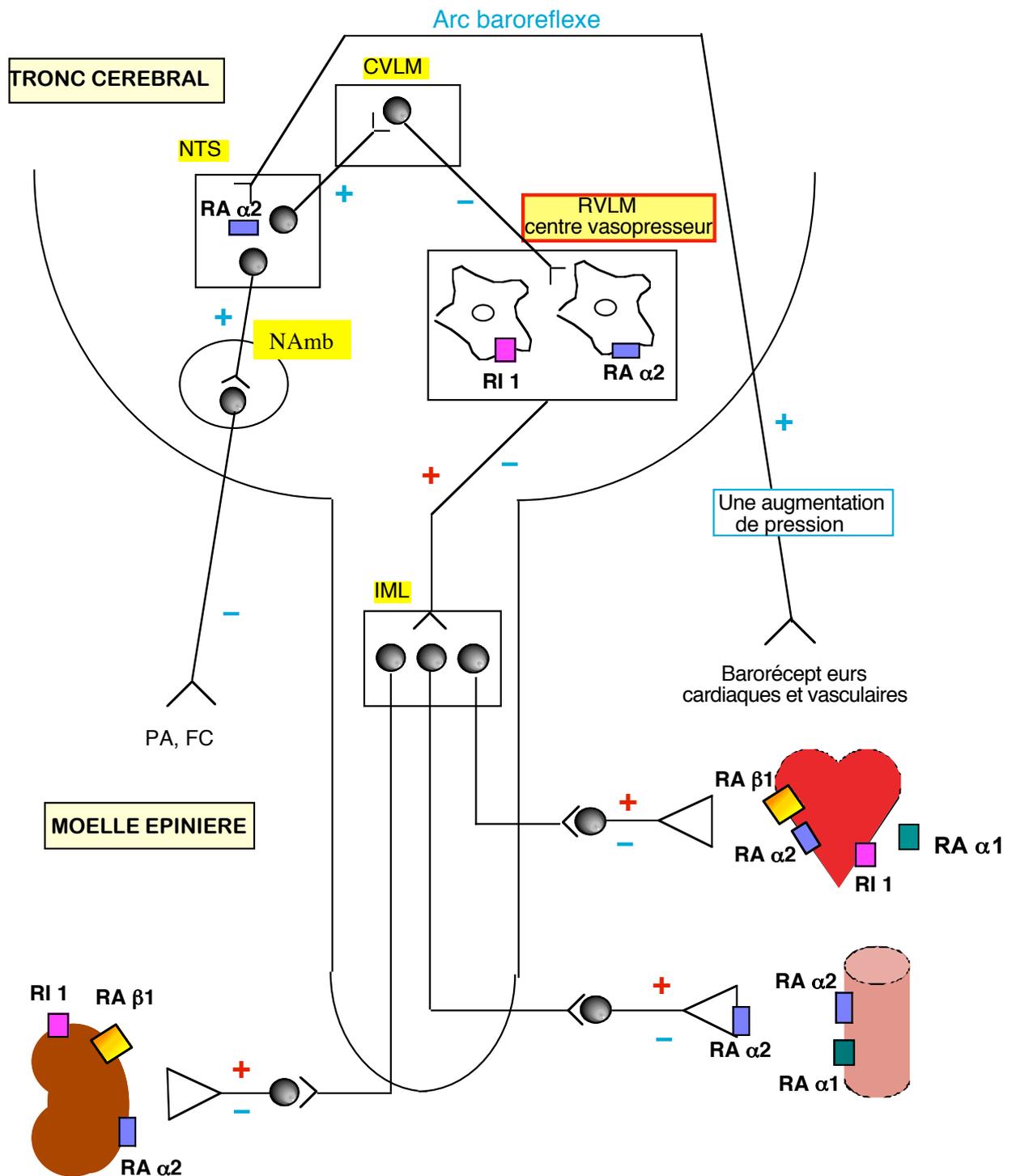


Figure 12 : Organisation du système nerveux sympathique. RVLM et CVLM = régions rostro-ventro et caudo-ventro-latérales du bulbe rachidien ; NTS = noyau du tractus solitaire ; NAmb = noyau ambigu ; IML = région intermédiaire-latérale de la moelle épinière ; RA α_1 , RA α_2 et RA β = récepteurs adrénergiques de types α_1 , α_2 et β ; RI $_1$ = récepteur imidazolinique de type I $_1$. Le sigle « + » en rouge reflète les conséquences d'une activation du système nerveux sympathique. Les sigles « + » et « - » en bleu reflètent les conséquences d'une activation des barorécepteurs suite à une augmentation de pression.

4.1.2 Voies périphériques

4.1.2.1 Les récepteurs alpha-adrénergiques

Les voies périphériques efférentes du SNA se composent de fibres pré-ganglionnaires qui forment des synapses avec les fibres post-ganglionnaires sympathiques dans les ganglions. Ces dernières libèrent de la noradrénaline qui va stimuler deux types de récepteurs, les récepteurs alpha et beta-adrénergiques.

On distingue 2 sous-types de récepteurs : α_1 et α_2 ($RA\alpha_1$ et $RA\alpha_2$) (figure 12).

Les $RA\alpha_1$ sont principalement localisés sur les vaisseaux où leur activation induit une vasoconstriction donc une augmentation des pressions de remplissage ; dans le cœur la densité dépend de l'espèce, chez l'Homme elle est faible. Ils ont une action inotrope positive (Li et al., 1997).

Les $RA\alpha_2$ peuvent être différenciés en quatre sous-types : α_{2A} , α_{2B} , α_{2C} et α_{2D} (Bylund, 1988; Simonneaux et al., 1991). Chaque sous-type a une distribution spécifique dans le système nerveux central et dans les tissus périphériques ; cela suggère que chacun a une fonction particulière (tableau 4). Ils ont ainsi un rôle important dans la régulation cardiovasculaire.

a. Organes	Effet	Type de $RA\alpha_2$
Vaisseaux sanguins	Contraction	$RA\alpha_{2B}$
Rein	Réduction de la sécrétion de rénine, donc baisse de la rétention hydro-sodée	$RA\alpha_{2B}$
Terminaison nerveuse	Rétro-contrôle négatif de la libération de la NA	$RA\alpha_{2A}$, $RA\alpha_{2C}$
Bulbe rachidien	Inhibition du SNS	$RA\alpha_{2A}$
Locus coeruleus	Effet sédatif	$RA\alpha_{2A}$

Tableau 4 : Récapitulatif des effets de la stimulation des différents récepteurs adrénergiques de type α_2 sur la fonction cardiovasculaire et sur la sédation. Données obtenues à partir de plusieurs publications : Hein et al., 1999; Link et al., 1996; Nicholas et al., 1993.

4.1.2.2 Les récepteurs beta-adrénergiques

Ils sont de 3 types β_1 , β_2 , β_3 ($RA\beta_1$, $RA\beta_2$, $RA\beta_3$)

Les $RA\beta_1$ sont localisés dans le cœur et ont des effets inotropes (contractilité), chronotropes (fréquence cardiaque) et dromotropes (vitesse de conduction auriculo-ventriculaire) positifs. De plus, ils régulent la sécrétion de rénine (figure 12).

Les $RA\beta_2$ sont localisés dans les vaisseaux et ont un rôle dans la vasodilatation.

Les $RA\beta_3$ ont été localisés chez l'homme dans les ventricules cardiaques.

4.2 Implication du SNS dans les dysfonctions cardiaques

A court terme, par ses effets inotropes et chronotropes positifs et son action vasoconstrictrice, une hyperactivité sympathique permet à l'organisme de s'adapter à une baisse de débit cardiaque ou à une baisse de flux sanguin. Cependant, une hyperactivation chronique du SNS comme celle observée dans un grand nombre de pathologies cardiaques, notamment dans l'HTA (Mancia et al., 1999; Mark, 1996) et l'ICC (Kaye et al., 1995), a d'importants effets délétères à long terme qui seront décrits ci-dessous.

Chez l'Homme, la mesure des catécholamines plasmatiques ou encore l'enregistrement du trafic nerveux des efférences sympathiques post-ganglionnaires dans les nerfs brachial et péronéal par microneurographie ont permis de mettre en évidence une hyperactivité sympathique dans l'hypertension artérielle (Esler et al., 1989; Grassi and Esler, 1999) et dans l'insuffisance cardiaque (Cohn et al., 1984; Leimbach et al., 1986).

L'HVG, est une forte cause de morbidité et mortalité ; l'implication du système nerveux sympathique dans le remodelage cardiaque a maintenant bien été mis en évidence. Chez l'Homme, une étude assez récente a pour la première fois prouvé qu'il existait une corrélation entre l'HVG, associée à l'HTA et l'augmentation de l'activité sympathique cardiaque (Schlaich et al., 2004). Diverses études ont montré que les 2 causes de l'HVG, la fibrose et l'hypertrophie des cardiomyocytes, sont dépendantes de l'hyperactivité sympathique.

4.2.1 Action vasculaire

L'augmentation de l'activité sympathique dans la circulation périphérique et dans le rein induit une vasoconstriction et une rétention de sodium via l'activation des $RA\alpha_1$ et α_2 , induisant une augmentation de la précharge et de la post-charge.

D'autre part, l'hyperactivité sympathique a aussi un effet trophique sur les cellules vasculaires, ce qui accroît la rigidité des parois vasculaires, les résistances vasculaires périphériques et donc l'augmentation de la postcharge (Bevan, 1984).

Cette vasoconstriction chronique et la rigidification des vaisseaux participent ainsi au **développement de l'HTA** du fait d'une augmentation de la postcharge. Par la suite, l'activation du SNS induira aussi une augmentation de rénine et donc d'AngII, amplifiant encore l'HTA.

L'HTA aura alors les différentes conséquences cardiaques expliquées dans le paragraphe 2 de l'introduction.

4.2.2 Action sur la matrice extracellulaire cardiaque

L'administration en continu d'agonistes adrénergiques (NA ou isoprotérénol) chez le rat induit une synthèse de collagène responsable d'une fibrose dans le VG et donc impliqué dans le développement de l'HVG (Briest et al., 2001; Masson et al., 1998). D'autre part, une étude effectuée sur culture de fibroblastes cardiaques de rats a montré une prolifération des fibroblastes lorsqu'ils sont exposés à des catécholamines ; cette action étant dépendante des $RA\beta_2$ (Leicht et al., 2000).

L'activation du SNS est également impliquée dans le développement d'une fibrose périvasculaire augmentant encore la rigidité des vaisseaux. Chez le rat, une stimulation en continu des $RA\beta$ avec de l'isoprotérénol est responsable à la fois du développement d'une fibrose interstitielle et d'une fibrose autour des artères coronaires (Masson et al., 1998).

4.2.3 Action cardiotrophique

Le SNS joue également un rôle trophique (Colucci, 1998). Des études réalisées sur des cultures de cardiomyocytes ont montré que l'activation des $RA\alpha_1$ induisait le développement

d'hypertrophie myocardique (Simpson, 1983). L'activation des RA β est également impliquée dans le développement de l'HVG (Long et al., 1992).

4.2.4 Effets toxiques

De fortes concentrations de NA ont un effet toxique sur le myocarde, induisant un phénomène d'apoptose. L'exposition de cardiomyocytes en culture à de fortes concentrations de NA pendant 72 heures induit une réduction significative de la viabilité des cellules. Cette réduction est dépendante du temps d'exposition et de la concentration de NA. Cette action est directement due aux RA β , car elle est atténuée en présence de β -bloqueurs et est reliée à une surcharge de calcium responsable d'une hypercontractilité des cardiomyocytes (Mann et al., 1992). Cet effet toxique est une des causes de la décompensation cardiaque.

4.2.5 Effet arythmogène

La tachycardie qui est observée dans l'ICC est également due à la présence d'une hypersympathicotonie. Si dans un premier temps, l'augmentation de fréquence permet un maintien du débit, elle induit aussi une augmentation de demande en oxygène, elle augmente les risques d'arythmie et donc est une cause fréquente de mort subite (Ebinger et al., 2005; Teerlink and Massie, 2000).

5. TRAITEMENTS PHARMACOLOGIQUES DES DYSFONCTIONS VENTRICULAIRES GAUCHES DANS LA CARDIOPATHIE HYPERTENSIVE

L'importance de l'hyperactivité du système sympathique dans les pathologies cardiovasculaires et dans leurs complications a induit le développement de plusieurs traitements jouant sur la régulation de ce système. Dans cette partie, nous ne nous intéresserons donc qu'à ce type de traitements dans les 2 pathologies sur lesquelles nous avons travaillé.

Avant de décrire les traitements existants, intéressons-nous déjà aux différents bénéfices que nous recherchons dans le traitement de l'HTA et donc dans ses complications. « **Quelles seraient donc les caractéristiques d'un antihypertenseur idéal ?** »

(1) Le but premier du traitement de l'HTA est la réduction de la pression artérielle. Une méta-analyse publiée en 1990 a montré que le bénéfice du traitement est dépendant de la baisse de pression artérielle. Il a été montré une réduction de 40 à 50% de l'évolution vers l'ICC lorsque les chiffres tensionnels sont normalisés (Collins et al., 1990). La réduction de la pression artérielle résulte généralement en une réduction de la masse ventriculaire gauche avec la majorité des anti-hypertenseurs. Cependant, un vasodilatateur pur tel que le minoxidil ou l'hydralazine, induisent une réduction de pression artérielle sans avoir d'effet sur l'HVG (Sen et al., 1974).

(2) Un effet direct sur l'HVG est également nécessaire dans le traitement de la cardiopathie hypertensive. L'étude de Framingham a montré les risques cardiovasculaires qu'engendrent une HVG, avec la mise en évidence d'une augmentation de mortalité et morbidité (Kannel, 1991). Malgré l'intérêt d'une baisse de la PA, diverses études n'ont montré qu'une relation modérée entre la baisse de pression et la régression de l'HVG (Dahlof et al., 1992). Donc une baisse de l'HTA est insuffisante pour réduire les complications cardiaques, d'autant plus que l'étude LIFE a montré l'intérêt d'une régression de l'HVG indépendamment de l'effet hypotenseur. A une baisse de pression équivalente, certains traitements sont plus efficaces dans la régression de l'HVG, et permettent ainsi une réduction plus importante des risques cardiovasculaires (Dahlof et al., 2002).

(3) Comme décrit dans le paragraphe 2 de l'introduction, l'HTA est associée à une dysfonction diastolique, un facteur majeur dans l'évolution de la cardiopathie vers une ICC. Donc une troisième cible est une action bénéfique sur la fonction diastolique. Une amélioration de la relaxation et une augmentation de compliance permettent un retardement dans l'évolution vers l'IC diastolique, puis vers une IC mixte.

Lorsque la cardiopathie a atteint son stade terminal, c'est à dire une ICC, le traitement idéal a pour but d'améliorer la fonction systolique évaluée par la fraction d'éjection, d'améliorer la

fonction diastolique en baissant les pressions de remplissage du VG et de réduire le taux de morbidité et de mortalité.

Les traitements agissant sur le SNS sont des traitements de référence dans l'insuffisance cardiaque. Dans notre travail, nous avons étudié quelques types d'inhibiteurs sympathiques, nous avons donc jugé nécessaire de décrire les différents médicaments existant, par leur mode d'action et leurs intérêts dans l'HTA et l'ICC.

5.1. Les β -bloqueurs

5.1.1 Mode d'action

Par leur action inhibitrice du SNS, ces médicaments peuvent agir à différents niveaux : (i) réduire les conditions de charge du cœur par un effet sur l'HVG, (ii) réduire la tachycardie donc les arythmies et (iii) réduire l'effet toxique des catécholamines donc l'apoptose des cardiomyocytes. Diverses études précliniques et cliniques, qui seront citées ultérieurement, ont montré l'effet bénéfique de ces médicaments dans la regression de l'HVG, de même qu'une réduction de mortalité (Dellsperger et al., 1990; Friberg et al., 1986).

3 générations de β -bloqueurs définies selon des critères historiques et pharmacologiques ont été développées. La première génération de médicaments, la première utilisée en clinique, ne possède pas de sélectivité pour les $RA\beta$. La deuxième génération de β -bloqueurs est sélective des $RA\beta_1$. La troisième génération est sélective ou non des récepteurs adrénergiques, mais se caractérise surtout par des effets annexes à l'inhibition de ces récepteurs, qui sont potentiellement bénéfiques (tableau 5).

C'est la propriété bloquante de $RA\beta_1$ qui joue le rôle essentiel dans le bénéfice thérapeutique. La sélectivité β_1 permet de conserver relativement la relaxation bronchique, la vasodilatation périphérique ainsi que les actions métaboliques β_2 comme celles intervenant dans la régulation glycémique.

Non-sélectifs	Sélectifs β_1	Sélectifs ou non avec des effets annexes	
Timolol Propranolol	Métoprolol	Acébutolol (sélectif)	Action sympatho-mimétique
	Bisoprolol	Pindolol (non-sélectif)	
	Aténolol	Sotalol (non-sélectif)	Effet anti-arythmique
		Bucindolol (sélectif)	Action vasodilatatrice (NO)
		Nébivolol (sélectif)	
		Carvédilol (non-sélectif) Labétolol (non-sélectif)	Propriété alpha-bloquante

Tableau 5 : Classification des différentes générations de β -bloqueurs en fonction de leurs propriétés.

Le carvedilol présente le fort avantage d'être moins cardio-dépresseur que les β -bloqueurs de 1^{ère} et de 2^{ème} générations. En effet, ses propriétés d'antagoniste des $RA\alpha_1$ lui donnent une action vasodilatatrice responsable d'une réduction des résistances vasculaires périphériques qui va compenser l'effet cardiodépresseur du blocage des $RA\beta_1$.

5.1.2 Traitement de la cardiopathie hypertensive

En plus de leur effet anti-hypertenseur, beaucoup d'études effectuées durant les années 80 ont montré l'effet bénéfique des β -bloqueurs dans la régression de l'HVG chez les patients hypertendus ; cela a pu être observé par exemple avec le bisoprolol, l'aténolol ou encore le métoprolol (Cifkova et al., 1987; Gosse et al., 1990). Cependant, cet effet anti-hypertrophique est moindre que celui observé avec des IEC à baisse de pression équivalente. De plus, une étude comparant l'effet de l'aténolol et du losartan sur la fibrose interstitielle a montré que seul le sartan induit une réduction de cette fibrose (Ciulla et al., 2004).

Outre ces effets, les β -bloqueurs pourraient avoir un intérêt dans l'amélioration du remplissage ventriculaire, et ceci en partie par leur effet bradycardisant. Quelques études se sont intéressées à ces médicaments dans le traitement de la dysfonction diastolique associée à l'HTA et les résultats sont encore limités. Six mois de traitement avec l'atenolol ou le nebivolol améliorent le profil diastolique chez des patients hypertendus (Nodari et al., 2003a).

Par contre, une étude effectuée avec le carvedilol ne montre qu'une faible augmentation du rapport E/A, elle n'est pas statistiquement différente du groupe placebo (Bergstrom et al., 2004).

5.1.3 Traitement de l'ICC

Les β -bloqueurs, longtemps contre-indiqués dans l'insuffisance cardiaque, car aux premiers abords, un blocage important du SNS pendant des périodes d'instabilités (par exemple, lors d'un effort) pourrait être désastreux. Mais ces médicaments sont maintenant considérés comme un traitement de référence. Les médicaments de 1^{ère} génération ne sont pas utilisés dans le traitement de l'ICC car ils sont difficilement tolérés chez ces patients. Par contre beaucoup d'études effectuées sur les β -bloqueurs de 2^{ème} et 3^{ème} générations ont montré leurs intérêts dans l'ICC. Il a été montré une amélioration de la contractilité et de la tolérance à l'exercice (Lechat et al., 1998; Waagstein et al., 1993). D'autres études ont montré une régression de l'HVG, en partie par un blocage ou même une réversion de l'hypertrophie cellulaire et ont montré un effet cardioprotecteur (Hall et al., 1995; Ruffolo and Feuerstein, 1998). Pour finir, une amélioration de la fonction diastolique a pu être mise en évidence par le carvedilol (Capomolla et al., 2000). Les β -bloqueurs ont donc des effets bénéfiques à la fois sur le remodelage et sur la fonction cardiaque. Cela peut se traduire par la baisse des hospitalisations observées dans certaines études (CIBIS, 1994; Waagstein et al., 1993).

Les études de survie ont confirmé l'importance d'une réduction de l'activité sympathique dans l'ICC. En effet, au terme des études CIBIS II et MERIT-HF réalisées avec des β -bloqueurs de 2^{ème} génération (CIBIS II, 1999; Goldstein and Hjalmarson, 1999), des études CAPRICORN et COPERNICUS réalisées avec des β -bloqueurs de 3^{ème} génération (Keating and Jarvis, 2003), il est maintenant démontré que ces médicaments sont un traitement de choix dans l'insuffisance cardiaque quel que soit le stade de la pathologie (stade II à IV). Une étude en cours, l'étude COMET, vise à comparer directement l'efficacité du carvedilol à celle du métoprolol (Bristow et al., 2005). Cette classe de médicaments est la plus puissante en terme de bénéfices potentiels du traitement de l'insuffisance cardiaque, en permettant une réduction relative du risque de décès à 33% en moyenne par an, quel que soit le stade de la pathologie. A titre indicatif, les IEC permettent une baisse moyenne de 23% au terme d'un délai de 2 ans.

5.2. Les α -bloqueurs

Les substances alpha-bloquantes qui sont utilisées sont, soit alpha 1 et 2 bloquantes (phentolamine), soit alpha 1 bloquantes préférentielles (prazosine, doxazocine).

Le blocage des récepteurs alpha-adrénergiques relaxe les vaisseaux, ce qui abaisse la pression artérielle (baisse des résistances artérielles) et induit une tachycardie par mise en jeu du baroréflexe. Cette tachycardie est surtout présente avec les substances alpha 2 bloquantes par augmentation de la libération de noradrénaline par les terminaisons sympathiques. Avec les alpha 1 bloquants, la fréquence cardiaque n'est que peu modifiée car les récepteurs alpha 2 présynaptiques, qui diminuent la libération de noradrénaline, ne sont pas bloqués.

Les produits ne sont utilisés à ce jour que comme anti-hypertenseurs, ils ont été contre-indiqués dans le traitement de l'IC. En effet, l'étude de mortalité et de morbidité ALLHAT (Antihypertensive and Lipid Lowering treatment to prevent Heart Attack Trial) a comparé les effets d'un diurétique avec ceux de la doxazocine, chez les patients hypertendus, sur la survenue d'une ICC. Il en est sorti que les risques d'accidents vasculaires cérébraux, d'évolution vers une ICC ou encore d'angine de poitrine sont plus élevés chez les patients traités avec l' α -bloqueur ; ces résultats ont conduit les médecins à stopper la doxazocine avant la fin de l'étude (Messerli, 2001; Stafford et al., 2004).

5.3. Les inhibiteurs sympathiques d'action centrale

5.3.1 Intérêts thérapeutiques

L'importance du SNS dans les altérations cardiaques, les effets très positifs du carvedilol (un α et β -bloqueur) dans l'ICC, ou encore les effets bénéfiques d'une sympathectomie dans un modèle d'IC (Perlini et al., 2006), nous orientent vers l'hypothèse selon laquelle une inhibition de l'ensemble des effecteurs du système nerveux sympathique, c'est à dire des récepteurs α et β -adrénergiques, pourrait être bénéfique dans le traitement de cette pathologie.

5.3.2 Description des médicaments

La 1^{ère} génération d'anti-hypertenseurs centraux était constituée de produits comme la clonidine et l' α -métyldopa reconnus pour leur propriété d'agoniste des RA α_2 . Ces médicaments ont largement été étudiés dans les années 1970 et 80 en raison de leur profil hémodynamique et de leur efficacité à réduire l'HTA. Mais de nombreux effets secondaires dus à l'activation des RA α_2 (sédation, sècheresse buccale, syndrome de rebond après arrêt de traitement) ont diminué l'intérêt de cette classe de médicaments. Cependant, l'introduction de nouvelles molécules, la rilmenidine et la moxonidine, ayant toujours une action inhibitrice centrale du SNS et présentant des effets hémodynamiques similaires à ceux observés avec les agonistes α_2 -adrénergiques, ceci avec moins d'effets secondaires, ont relancé la recherche (Ernsberger et al., 1993; Safar, 1989).

Durant les années 80, plusieurs équipes ont travaillé sur les mécanismes d'action de la clonidine et ont mis en évidence l'existence d'un autre récepteur impliqué dans la régulation centrale du SNS : le récepteur des imidazolines de type I₁ (RI₁). La démonstration de l'origine centrale de l'effet hypotenseur de la clonidine a été démontrée par Kobinger et al. en 1967 (Kobinger, 1967). Par la suite, les travaux de Bousquet et al. en 1973 ont précisé la localisation du site d'action ventro-bulbaire hypotenseur au niveau du Noyau Réticulaire Latéral (Bousquet and Guertzenstein, 1973), et pendant longtemps, les effets de la clonidine ont été attribués à la stimulation des RA α_2 bulbaires (Kobinger, 1978). L'hypothèse d'une mise en jeu de récepteurs non-adrénergiques mais sensibles à des substances contenant un noyau imidazolinique a été proposée en 1984, au terme d'une étude de type relation structure-activité (Bousquet et al., 1984). Cette étude avait montré que l'injection de catécholamines dans le NRL n'abaisse pas la pression artérielle, alors que des substances possédant une structure imidazolinique, comme la clonidine, sont capables de baisser la pression. L'existence de ces sites de liaison a été confirmée par des études de liaison spécifique de ligands marqués (Bricca et al., 1988; Ernsberger et al., 1987) et ceci dans différentes espèces (Homme, lapin, rat, porc, cobaye).

5.3.2.1 *Localisation des RI₁*

Les RI₁ font partie d'une famille hétérogène de sites de liaison spécifiques aux imidazolines ; cette famille est composée de quatre sous-types : RI₁, RI₂, non RI₁/non RI₂ et RI₃. Les

différents produits de type imidazolinique cités dans ce travail, ont leur action sympatho-inhibitrice via les RI_1 . Les RI_1 sont donc les récepteurs impliqués dans la régulation cardiovasculaire. Nous ne nous intéresserons pour cela qu'aux propriétés des RI_1 . Nous pouvons cependant préciser que le récepteur non I_1 /non I_2 a été localisé au niveau des terminaisons pré-synaptiques et pourrait avoir un rôle dans la régulation de la libération de NA (Molderings et al., 1999), mais seule la clonidine a une affinité pour ces récepteurs. Les RI_1 ont été identifiés dans un certain nombre de tissus où ils joueraient un rôle important dans la régulation cardiovasculaire. En effet, en plus de leur localisation dans le RVLM, les RI_1 ont été mis en évidence dans le rein (Ernsberger et al., 1995) et dans le cœur par immunohistochimie, Immuno-blot, liaison spécifique et autoradiographie (El-Ayoubi et al., 2002) (figure 12).

La localisation des RI_1 dans le **centre vasopresseur du bulbe rachidien** leur confère un rôle important dans l'inhibition de la libération de NA et, en plus, un effet natriurétique (Penner and Smyth, 1994).

Leur rôle dans la modulation de la natriurèse est en plus appuyé par leur localisation **dans le rein** (Penner and Smyth, 1994). Une activation de ces récepteurs induit une augmentation de la sécrétion sodique donc une baisse de la rétention d'eau, qui peut être bloquée par un antagoniste des RI_1 , l'idazoxan. De plus, il a été montré une augmentation de l'expression des RI_1 dans un modèle d'hypertension déclenchée par l'administration chronique d'Ang II chez le rat (Ernsberger et al., 1991). Les RI_1 pourraient donc avoir un rôle dans la baisse des résistances vasculaires périphériques et dans la réduction de la rétention hydro-sodée observée dans l'ICC.

Il est également intéressant de se pencher sur l'action directe de ces récepteurs **sur le cœur**. La densité des RI_1 dans les oreillettes est 2 fois plus importante que dans les ventricules d'un cœur normal. De plus, l'étude de El Ayoubi et al. a montré la présence d'une surexpression des RI_1 dans l'oreillette chez le SHR, dans le cœur dans un modèle de cardiomyopathie avancée chez le hamster et dans les ventricules chez l'homme en insuffisance cardiaque. En outre, des études effectuées sur des cœurs isolés ont montré que la moxonidine et la clonidine induisent une libération d'ANP, une hormone cardiaque jouant un rôle important dans l'homéostasie pression-volume (Cao et al., 2004; Mukaddam-Daher, 2006; Mukaddam-Daher et al., 1997). L'ANP est augmentée dans l'HTA et dans l'ICC. En conclusion, les RI_1 cardiaques seraient importants dans la régulation de la fonction cardiovasculaire,

indépendamment de l'effet régulateur cardiaque central des RI_1 , et pourraient donc être une cible supplémentaire dans le traitement des dysfonctions myocardiques.

5.3.2.2 Voies de transduction des RI_1

Deux voies de transduction associées aux RI_1 ont été décrites dans les cellules PC12 (figure 13). La stimulation des RI_1 provoque, par activation de la phospholipase C spécifique de la phosphatidylcholine (PC-PLC), une accumulation de diacylglycerol et une libération de phosphocholine, d'acide arachidonique, de prostaglandines dans le milieu extracellulaire (Grenney et al., 2000; Separovic et al., 1996). Notre équipe a également montré qu'une stimulation de ces récepteurs induit une baisse du taux d'AMPc (Grenney et al., 2000). Puis des études ont étendu la signalisation intracellulaire en montrant que des produits de type imidazoliniques, que sont la rilménidine et la moxonidine, étaient capables d'activer des protéines kinases C et des MAPK par un mécanisme impliquant l'activation de la PC-PLC (Dupuy et al., 2004; Edwards et al., 2001; Zhang et al., 2001). L'activation de ces kinases semblerait jouer un rôle dans la régulation de la prolifération cellulaire (figure 13).

Par ailleurs, les expériences de liaison spécifique ont montré que la liaison des imidazolines aux RI_1 était sensible aux nucléotides guanyliques (Ernsberger and Shen, 1997; Grenney et al., 2000).

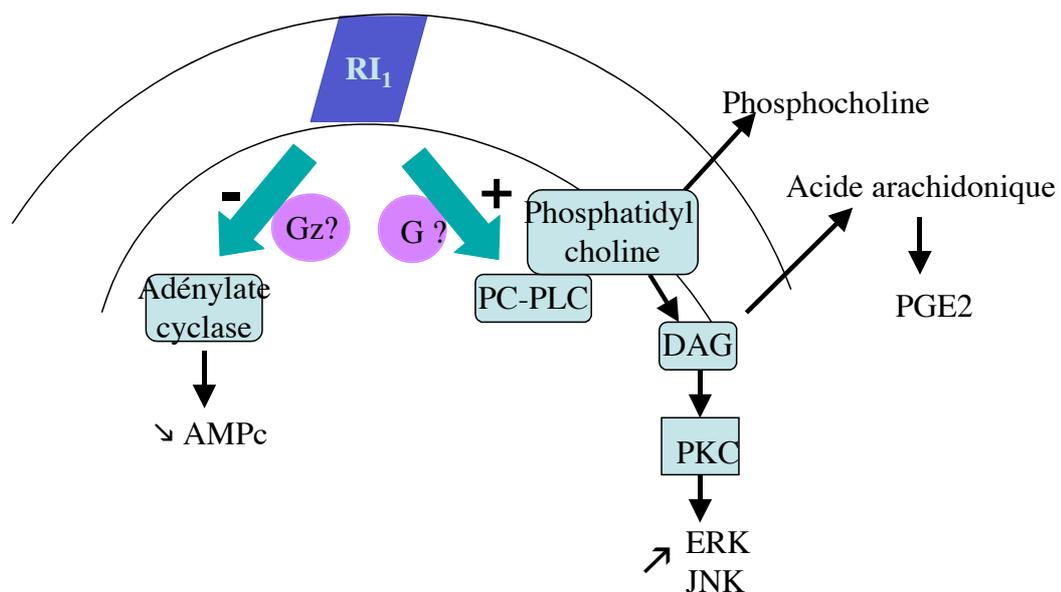


Figure 13 : Schéma des voies de transduction principales des RI_1 .

Les 3 médicaments de type imidazolinique de référence sont la clonidine, un agent de première génération ayant une affinité comparable pour les RA α_2 et les RI $_1$, et la rilménidine et la moxonidine, agents de deuxième génération ayant une plus forte affinité pour les RI $_1$ que les RA α_2 . Les agents de deuxième génération sont aujourd'hui beaucoup plus utilisés que la clonidine car ils induisent moins d'effets secondaires, du fait de leur plus faible affinité pour les RA α_2 .

5.3.3 Traitement de la cardiopathie hypertensive

Un certain nombre d'études cliniques ont établi l'efficacité de ces 3 médicaments dans la baisse de la pression artérielle (Masotti et al., 1986; Mitrovic et al., 1991; N'Guyen van Cao et al., 1988).

Ces traitements ont également montré des propriétés antihypertrophiques. Cela a été mis en évidence par des études pré-cliniques (Amann et al., 1992; Bobik et al., 1998; Thomas et al., 2003) et par diverses études cliniques. L'effet antihypertrophique de la clonidine en monothérapie est pourtant controversé car une étude a montré une réduction de la masse du VG après un traitement de 6 mois avec la clonidine à une dose de 300-450 μ g/jour, alors qu'aucun effet anti-hypertrophique n'a été observé après 1 an de traitement à une dose de 100-300 μ g, 2 fois par jour (Gottdiener et al., 1997; Huting et al., 1991).

Au contraire, les différentes études effectuées avec la rilménidine et la moxonidine ont montré une régression de l'HVG chez les patients hypertendus (Elliott, 1998; Sadowski et al., 1998; Trimarco et al., 1995).

Mais les études s'intéressant aux effets des antihypertenseurs d'action centrale sur la dysfonction diastolique associée à l'hypertension restent encore très limitées. Une étude chronique effectuée chez des patients hypertendus avec la clonidine n'a montré qu'une amélioration du TRIV, le rapport E/A étant inchangé (Huting et al., 1991). Pourtant l'administration d'une dose unique de clonidine permet une amélioration de la fonction diastolique avec une normalisation du rapport E/A, sans altération de la fonction systolique (Farsang et al., 2003; Koldas et al., 2003; Stefanadis et al., 2001). Par ailleurs, seules trois études cliniques ont été réalisées avec la rilménidine et les résultats décrits ont été très succints : un traitement de 3 semaines induit une réversion du rapport E/A (Koldas et al., 2003), la normalisation du rapport n'est observée que chez certains patients dans la deuxième

étude (Farsang et al., 2003) et la troisième étude ne donne aucune valeur (Sadowski et al., 1998).

Aucune étude complète, ni pré-clinique, ni clinique, n'a donc encore été effectuée sur les effets de ces produits sur la dysfonction diastolique. Or une analyse globale de la fonction diastolique (flux mitral, flux pulmonaire, DTI) est nécessaire afin de déterminer le réel impact de ces agents sur le remplissage ventriculaire gauche.

5.3.4 Traitement de l'ICC

Plusieurs études cliniques prometteuses ont été réalisées avec la clonidine. Des études à court et long terme ont mis en évidence que la clonidine induisait une amélioration de l'état hémodynamique, de la fraction d'éjection et des capacités à l'effort (Giles et al., 1987; Hermiller et al., 1983; Manolis et al., 1995; Manolis et al., 1997). Elle réduit également la fréquence des arythmies présentes dans l'ICC (Zhang et al., 1998). En outre, une étude pré-clinique de survie a montré les effets bénéfiques de la clonidine dans un modèle expérimental d'infarctus du myocarde chez le rat (Zhang and Cheng, 2000).

Une étude pré-clinique effectuée dans un modèle d'infarctus du myocarde chez le rat a montré que la moxonidine diminue le remodelage cardiaque induit par l'infarctus (Van Kerckhoven et al., 2000). De plus, ce produit a un effet protecteur sur le développement des arythmies induites par une ischémie myocardique aigue (Lepran and Papp, 1994). Par contre, ses potentiels effets bénéfiques dans des modèles d'IC ont été contre-carrés par les résultats d'une étude clinique. En effet, l'étude de mortalité MOXCON, effectuée chez des patients en stade sévère d'ICC, a dû être arrêtée prématurément pour cause de surmortalité (Coats, 1999; Cohn et al., 2003). Cette mortalité pourrait être due à un surdosage et au choix de patients se trouvant à un stade trop sévère de la pathologie. Cependant, l'hypothèse d'une dose trop forte n'a pas pu être confirmée par des travaux réalisés dans notre laboratoire, car une administration chronique de moxonidine a montré des effets délétères sur la survie dans un modèle de cardiopathie induite par l'adriamycine, et ceci à de faibles doses (Thomas et al., 2004).

La réelle place des anti-hypertenseurs d'action centrale dans l'ICC est donc encore floue, les données sont à ce jour contradictoires entre les produits de première et de deuxième générations.

En regroupant tous ces résultats obtenus, à la fois dans l'hypertension artérielle et dans l'insuffisance cardiaque, nous pouvons penser que des données sont encore manquantes pour permettre de déterminer l'intérêt des produits imidazoliniques dans les dysfonctions cardiaques.

- (1) Dans les dysfonctions ventriculaires gauches associées à la cardiopathie hypertensive, une évaluation des effets de ces médicaments dans la phase de remplissage du ventricule gauche est encore trop succincte pour affirmer un effet bénéfique.
- (2) Dans l'insuffisance cardiaque congestive, il existe une controverse entre les médicaments de première et de deuxième génération. La clonidine est bénéfique sur la fonction systolique et la survie, alors que la moxonidine a principalement montré être néfaste sur la survie.

Un des buts de ce travail a donc été de préciser le profil global de l'effet des inhibiteurs sympathiques centraux en fonction de l'étiologie et du stade évolutif de la maladie.

Nous nous sommes intéressés aux effets de quelques produits de type imidazolinique sur la fonction cardiaque dans différents stades de la cardiopathie hypertensive, en comparant de surcroît, les agents imidazoliniques de première et de deuxième génération.

Cependant, pour cette étude, il nous fallait développer un modèle expérimental présentant une pathologie comparable à celle observée chez l'Homme, un modèle adapté à des études chroniques, à une évaluation échocardiographique et sensibles aux agents de type imidazolinique. Quel pourrait être ce modèle ?

6. MODELES EXPERIMENTAUX DE CARDIOPATHIE HYPERTENSIVE

Un modèle expérimental idéal pour toute pathologie cardiovasculaire humaine devrait avoir plusieurs caractéristiques :

- Etre le plus proche possible de la pathologie observée chez l'Homme
- Présenter une origine semblable de la pathologie
- Etre reproductible
- Développer des symptômes prédictibles et contrôlables
- Pouvoir mesurer facilement les paramètres cardiovasculaires, biochimiques et hémodynamiques
- Etre adapté à des études chroniques
- Etre techniquement abordable
- Etre en accord avec les règles éthiques de la recherche expérimentale

Un grand nombre de modèles de cardiopathie hypertensive ont été développés. Ci-dessous sont présentés les principaux modèles utilisés chez le petit animal (tableau 6). Nous ne développerons pas les différents modèles transgéniques existant chez la souris bien qu'ils soient de plus en plus nombreux, et d'une grande utilité pour comprendre l'implication des différents récepteurs et autres protéines dans diverses cardiopathies (Franz et al., 1997).

Article II.	Modèles	i. Technique
	Génétiques : rat de Dahl sensible au sel, rat spontanément hypertendu...	Maladie spontanée
	Coarctation de l'aorte	Sténose de l'aorte ascendante suite à une thoracotomie
	DOCA-Salt	Implant sous-cutané de désoxycorticostérone associé à un régime enrichi en sel et à une néphrectomie
	Goldblatt 1K,1C ou 2K,1C ou 2K,2C	Sténose de (ou des) artère(s) rénale(s) associée ou non à une néphrectomie contre-latérale
	Obésité	Régime enrichi en graisse
	Blocage de la NO-synthase	Administration chronique de L-NAME

Tableau 6 : Exemples de modèles de cardiopathie hypertensive (Hasenfuss, 1998; Muders and Elsner, 2000).

Pour notre étude, il nous fallait trouver l'espèce animale la plus adaptée afin d'avoir un modèle expérimental présentant le plus de caractéristiques possibles du modèle optimal détaillées ci-dessus. Plusieurs espèces sont utilisées dans le domaine des études cardiovasculaires, présentant chacun des avantages et des inconvénients.

6.1.Le rat

C'est l'espèce la plus couramment utilisée car elle présente plusieurs des caractéristiques.

- (1) Un grand nombre de modèles d'hypertension artérielle sont accessibles, et l'origine de l'hypertension présente souvent des similitudes avec celle observée chez l'Homme. Certains modèles sont d'origine génétique : le rat spontanément hypertendu (SHR) est le modèle d'HTA et d'HVG le plus utilisé. La cause exacte de la pathologie n'est pas expliquée, mais elle reflète assez bien les caractéristiques de l'HTA primaire chez l'Homme. Un autre modèle d'origine génétique est le rat de Dahl sensible au sel, il se rapproche de l'HTA chez l'Homme qui est sensible au sel. Par ailleurs, le modèle de Goldblatt, un modèle iatrogène, a une origine d'HTA proche de l'HTA rénovasculaire chez l'Homme, par la réduction du flux rénal. Mais cela n'est pas le cas dans tous les modèles iatrogènes : par exemple, le modèle DOCA-sel n'est comparable qu'aux hyperaldostéronismes.
- (2) Différents modèles sont stables et reproductibles ; particulièrement les modèles génétiques. Par contre, les modèles iatrogènes présentent des limites comme par exemple, le modèle d'hypertension rénovasculaire. Malgré une origine comparable avec celle de l'Homme, la stabilité est limitée ; dans une étude, seuls 45% des rats 2K,1C développaient une HTA stable.
- (3) Le SHR, le rats de Dahl ou encore le rat DOCA-sel ont également l'avantage d'être contrôlables et prédictibles. Dans les deux derniers modèles les facteurs déclenchant l'HTA sont contrôlés, et du fait de la stabilité de ces modèles, la pathologie est prédictible.
- (4) Une dernière caractéristique intéressante du rat est sa petite taille qui permet de faire des études à grande échelle, dont des études de survie.

Un modèle optimal devrait encore présenter trois caractéristiques, mais à ce niveau, le rat trouve ses limites :

- (1) bien que la progression de l'hypertension et de l'HVG chez le SHR ou le rat de Dahl soit proche de l'évolution de la pathologie chez l'Homme, le rat présente plusieurs différences de la fonction myocardique comparée à celle de l'Homme : (i) le potentiel d'action est très court, il y a alors absence d'une phase de plateau, (ii) la capture du Ca^{2+} du cytosol est principalement effectuée par la pompe calcique du réticulum sarcoplasmique, l'activité de l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ est moindre, (iii) dans le myocarde d'un rat normal, l'isoforme de la chaîne lourde α de la myosine prédomine par rapport à la chaîne β et une inversion du rapport a lieu avec une charge hémodynamique et des changements hormonaux, (iiii) la FC est cinq fois supérieure à celle de l'Homme et la relation force/fréquence est inversée (Hasenfuss, 1998).
- (2) Une évaluation hémodynamique et cardiaque est faisable avec cette espèce. Cependant, elle présente un certain nombre de limites : (i) seule la technique de télémétrie permet de réaliser une mesure invasive chez l'animal éveillé, sinon, elle doit être faite chez l'animal anesthésié (l'anesthésie étant responsable de modifications des paramètres). La technique pléthysmographique de mesure de la pression à la queue, une technique non-invasive, ne permet de recueillir que la PAS, la mesure de la PAD n'étant pas fiable ; (ii) par ailleurs, l'évaluation cardiaque par échocardiographie est pratiquée chez le rat, notamment chez le rat de Dahl et le SHR (Escudero et al., 2004; Kihara and Sasayama, 1997; Masuyama et al., 2000; Ono et al., 2002). Cependant, du fait de leur petite taille, la dimension des cavités cardiaques est réduite, empêchant une évaluation complète de la fonction diastolique (flux pulmonaire, DTI). Toutes les études limitent cette évaluation à l'observation du flux mitral. De plus, une FC rapide chez le rat dans un état éveillé nécessite une anesthésie de l'animal afin de réduire le rythme. En effet, lorsque la FC est trop rapide, il y a fusion des ondes E et A, rendant impossible l'évaluation du flux mitral, or l'anesthésie induit d'importantes modifications de la fonction cardiaque. Une étude a déjà montré des échocardiographies réalisées chez le rat conscient, mais l'analyse se limitait à la fonction systolique (Brooks et al., 2003).

Ainsi, malgré les grands avantages de cette espèce, les difficultés d'avoir une bonne évaluation de la fonction cardiaque et de la pression artérielle dans de bonnes conditions rend

ce modèle difficilement utilisable pour notre étude. Nous voulons justement pouvoir effectuer une évaluation complète de la fonction cardiaque, avec le moins d'artefacts possibles.

6.2.Le chien

La physiologie cardiaque de cette espèce présente de nombreuses similitudes avec l'Homme. Une FC et une PA proches de l'Homme, et une grande taille rendent ce modèle tout à fait adapté aux échocardiographies (Chetboul et al., 2005; Kirberger and Berry, 1992; Thomas et al., 1993). De plus, il existe des modèles d'IC et d'HTA congénitales donc stables, reproductibles et contrôlables (Baumwart et al., 2005; Nicolle et al., 2005; Tippett et al., 1987).

Par contre, les grandes limites de cette espèce sont : (1) sa taille, rendant le stockage difficile et un coût très élevé ne permettant pas d'avoir de grands effectifs ; (2) les problèmes éthiques, rendant l'utilisation de cet animal délicate.

Cette espèce n'est pas utilisable dans nos conditions. Il nous fallait donc un animal se rapprochant plus de l'Homme, avec une taille raisonnable mais suffisante pour faire une bonne évaluation de la fonction cardiaque.

6.3.Le lapin

Cette espèce nous a paru être un bon compromis entre le rat et le chien pour nos études sur la fonction cardio-vasculaire.

- (1) Comparé au rat, le myocarde du lapin présente un certain nombre de similitudes à celui de l'Homme : (i) les chaînes lourdes β de la myosine sont prédominantes, (ii) le réticulum sarcoplasmique contribue à 70% et l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ à 30% à la recapture du Ca^{2+} , (iii) la relation force-fréquence est positive, (iiii) la FC est bien moins élevée que celle du rat (Hasenfuss, 1998).
- (2) La réalisation de mesures hémodynamiques, cardiaques et biochimiques est plus facile, surtout lors d'études chroniques. En effet, à l'inverse du rat, il est possible d'effectuer une mesure des pressions artérielles de façon invasive dans un état conscient sans avoir besoin d'utiliser la télémétrie. Par ailleurs, sa taille et une fréquence cardiaque bien moins élevée dans un état conscient que le rat, permet de faire une complète évaluation de la fonction ventriculaire gauche par

échocardiographie et ceci dans un état éveillé. Différentes études ont déjà effectué des analyses cardiaques complètes chez cette espèce (cela sera surtout développé dans le chapitre 1). Pour finir, sa plus grande taille et un prélèvement sanguin plus facile permettent de faire un certain nombre d'analyses biochimiques.

- (3) Sa taille est raisonnable pour faire des études chroniques, avec tout de même une limite dans la taille des effectifs.

Un autre avantage de cette espèce, très important pour notre étude par rapport au rat, est une meilleure réactivité aux divers agents imidazoliniques dans un état éveillé. En effet, des études ont montré, chez le rat conscient, un effet hypotenseur faible d'agents imidazoliniques tels que la rilménidine (Sannajust et al., 1992) alors que plusieurs études réalisées chez le lapin conscient ont montré un effet hypotenseur significatif de ces agents (Burke et al., 1998; Nagueh et al., 2000). Il semblerait que chez le rat éveillé, l'arc baroréflexe et les fibres noradrénergiques soient assez puissants pour contrecarrer les effets, et ce mécanisme est masqué lors d'une anesthésie avec le pentobarbital.

Cependant, ce modèle n'est encore pas un modèle optimal.

- (1) Il devrait présenter une cardiopathie avec une origine de la pathologie proche de celle de l'Homme.
- (2) Les symptômes de la pathologie doivent être comparables à ceux de l'Homme.
- (3) Le modèle doit être reproductible.

Or cette espèce ne présente qu'un nombre limité de modèles génétiques dans les pathologies cardiovasculaires. Comme exemple, nous pouvons citer des modèles transgéniques de cardiomyopathie hypertrophique (mutation de la chaîne lourde de myosine de type β ou mutation de la troponine I) (Sanbe et al., 2005) ou encore des modèles d'athérosclérose (surexpression de l'apolipoprotéine A humaine ou le lapin Watanabe présentant une hyperlipidémie) (Aliev and Burnstock, 1998; Fan and Watanabe, 2000). Seul un modèle de lapin présentant une dysfonction génétique du contrôle baroréflexe peut développer une hypertension lorsqu'il est mis sous un régime surchargé en sel (Weinstock et al., 1996).

Il a donc fallu utiliser un modèle iatrogène, comme ceux décrits dans le tableau 6, présentant un maximum des caractéristiques décrites précédemment.

Un seul type nous a réellement intéressé : le modèle de Goldblatt qui est le plus utilisé chez le lapin. Nous voulions observer les effets de produits inhibant l'activité sympathique. Il nous fallait donc un modèle dont le facteur déclenchant de l'HTA était dépendant d'une hyperactivité sympathique et nous avons pour cela choisi le modèle de Goldblatt de type 1K,1C. Les causes exactes de ce choix seront expliquées dans le chapitre suivant.

Le but premier de ce travail a donc été de mettre en place ce modèle et de le valider sur plusieurs niveaux : (1) obtenir une cardiopathie d'origine hypertensive proche de celle de l'Homme, pouvant évoluer à long terme, vers une insuffisance cardiaque congestive ; (2) avoir un modèle adapté à des études chroniques ; (3) pouvoir réaliser, chez l'animal éveillé, une évaluation complète de la fonction cardiaque.

BUTS DU TRAVAIL

Les deux buts de ce travail ont été :

- (1) la mise en place d'un modèle**
- (2) l'évaluation du profil global de l'effet des inhibiteurs sympathiques centraux sur la fonction cardiaque, en fonction de l'étiologie et du stade évolutif de la maladie.**

Afin d'y répondre, ce travail a été décomposé en 4 parties :

- la validation d'un modèle expérimental de cardiopathie hypertrophique chez le lapin ;
- une étude, en aigu, des effets hémodynamiques et cardiaques de différents antihypertenseurs d'action centrale dans le modèle présentant une hypertension artérielle. Nous avons voulu vérifier l'adaptabilité du modèle à ces substances et essayer de faire une étude sélectivité/activité ;
- une évaluation chronique des effets cardiaques d'un produit de type imidazolinique, la rilménidine en la comparant à un β -bloqueur, dans le modèle qui développe une hypertension artérielle. Nous avons alors essayé de répondre à la première question : quelle est l'action de ces substances sur le remplissage du ventricule ?
- enfin, une étude comparative des différents effets cardiaques et symptomatiques de trois traitements composés d'inhibiteurs sympathiques, périphériques ou centraux, chez le lapin au stade terminal de la cardiopathie hypertensive. Nous avons donc cherché à répondre à la deuxième question : ces médicaments auraient-ils une place dans le traitement de l'ICC et les mécanismes d'action des produits différencieraient-ils entre les médicaments de première et de deuxième génération ?

CHAPITRE 1

VALIDATION DU MODELE

1. INTRODUCTION : CHOIX DU MODELE EXPERIMENTAL

Nous avons décidé d'effectuer nos études chez le lapin pour les diverses raisons citées dans l'introduction : cette espèce présente des similitudes dans la physiologie cardiaque avec celle de l'Homme, les facteurs hémodynamiques et cardiaques sont facilement mesurables et cette espèce est adaptée à des études chroniques.

Nous avons alors choisi de travailler sur le modèle de Goldblatt, un modèle de cardiopathie hypertensive. Différents types de modèles de Goldblatt ont été décrits, les deux principaux étant les modèles 1K,1C (One Kidney, One Clip) et 2K,1C (Two Kidney, One Clip) (figure 1).

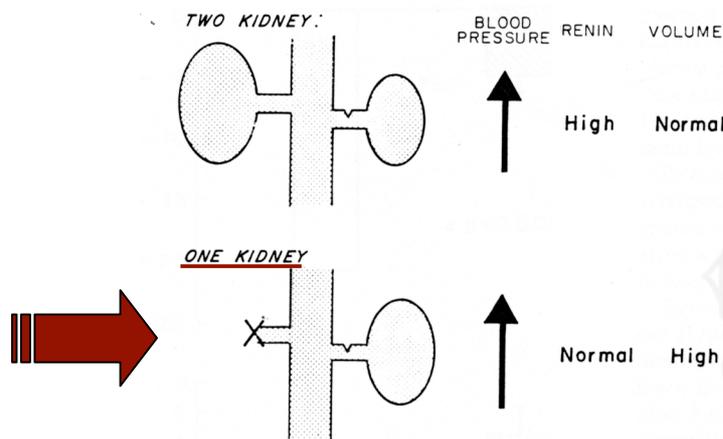


Figure 1 : Présentation des modèles 1K,1C et 2K,1C de Goldblatt (Laragh, 1991)

Ces modèles diffèrent dans les mécanismes impliqués dans le maintien de l'HTA. Dans les deux modèles, la pose du clip induit une réduction du flux sanguin dans le rein clippé, ce qui induit dans un premier temps, une augmentation de sécrétion de rénine et donc d'angiotensine II responsable d'une vasoconstriction. Cette surpression permet alors de compenser la baisse du flux rénal provoquée par la sténose. La sécrétion de rénine induit également une augmentation de la synthèse d'aldostérone responsable d'une rétention sodée, donc d'une rétention d'eau. Dans une première phase, le développement de l'hypertension est donc dépendant du système rénine-angiotensine, en réponse à une surcharge de pression. C'est dans la deuxième phase, la phase de maintien de l'hypertension, que les deux modèles se différencient, le modèle 2K,1C ne présentant pas la même rétention sodée. En effet, la présence du rein contro-latéral dans le modèle 2K,1C permet l'excrétion sodée et donc d'eau ;

le taux de rénine reste alors élevé, rendant le maintien de l'hypertension principalement dépendant du système rénine-angiotensine. Inversement, la néphrectomie réalisée dans le modèle 1K,1C empêche cette excrétion sodée, induisant un rétrocontrôle négatif de la rénine jusqu'à un retour aux valeurs de base ; le maintien de l'hypertension est donc indépendant du système rénine-angiotensine (Hall, 1991; Laragh, 1991). Cette différence entre les 2 modèles a pu être mise en évidence par l'administration d'un inhibiteur d'angiotensine II (salarazine) : une normalisation de la pression artérielle n'a pu être observée que dans le modèle 2K,1C (Laragh, 1991).

Dans le modèle 1K,1C, le maintien de l'hypertension est associé à l'augmentation de volume plasmatique, engendrée par la rétention d'eau (Hall, 1991). Afin de retrouver l'homéostasie, les nerfs afférents rénaux sont activés et vont alors activer le SNS central. Différentes études ont mis en évidence l'importance du SNS dans ce modèle : il a été montré une augmentation de la NA plasmatique et de la demi-vie de ce neuromédiateur (Rauch and Campbell, 1988; Tanaka et al., 1982; Vlachakis et al., 1984). Par ailleurs, la dénervation rénale, effectuée chez le rat, induit une réduction de la pression artérielle associée à une réduction de la concentration de NA dans l'hypothalamus (Oparil, 1986). Le modèle 1K,1C est donc un modèle d'hypertension présentant une hypervolémie plasmatique et dont le maintien de l'HTA est totalement dépendant de l'hypersympathicotomie.

Nous avons donc choisi ce modèle pour notre étude, d'autant plus que l'hypertension et les complications cardiovasculaires déclenchées par cette opération sont plus sévères que dans le modèle 2K,1C.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Mise en place du modèle expérimental de Goldblatt de type 1K,1C chez le lapin : procédure chirurgicale

Pour ce travail, nous avons utilisé des lapins mâles de Nouvelle-Zélande (centre d'élevage frères Grimaud, Roussay, France) âgés de 4 semaines et pesant entre 800 g et 1kg. Les lapereaux sont dispersés un par cage. Ils reçoivent une alimentation standard et ont libre accès à l'eau et à la nourriture. Les animaux sont à un cycle jour/nuit de 12h.

Le modèle d'hypertension artérielle de Goldblatt de type 1 rein, 1 clip ou 1K,1C a été développé chez le chien par Goldblatt et al. en 1934.

Afin de réaliser ce modèle, les animaux sont pré-médiqués avec un mélange kétamine (16mg/kg, par voie intra-musculaire) – xylazine (5mg/kg, par voie sous-cutanée) puis anesthésiés à l'isoflurane. Cette anesthésie est induite à 4% avec mélange air-oxygène à un débit de 2 l/min à l'aide d'un masque facial. Puis, elle est maintenue à 2,5% durant toute l'opération.

Avant la chirurgie, la vitesse du flux rénal gauche est mesurée par échographie en mode Doppler-couleur (Sonos 5500, Philips Ultrasound) à l'aide d'une sonde sectorielle de 12MHz. La sonde est placée le long du rachis dorso-lombaire pour réaliser une coupe du rein selon son grand axe. La vitesse du flux sanguin est évaluée par Doppler pulsé placé dans l'artère rénale segmentaire médio-latérale gauche avec un guidage par Doppler couleur.

Dans des conditions les plus aseptiques possibles, une incision est alors réalisée de chaque côté de la paroi abdominale après une anesthésie locale de la zone (lidocaïne 2%). L'incision droite permet de dégager et d'enlever le rein droit après avoir ligaturé le pédicule. De la même manière, l'incision gauche permet d'isoler et de sténoser l'artère rénale gauche. La sténose a été réalisée sous une loupe binoculaire afin d'éviter toute altération du nerf rénal.

Pour la réalisation de cette sténose, deux méthodes ont été testées (figure 2) :

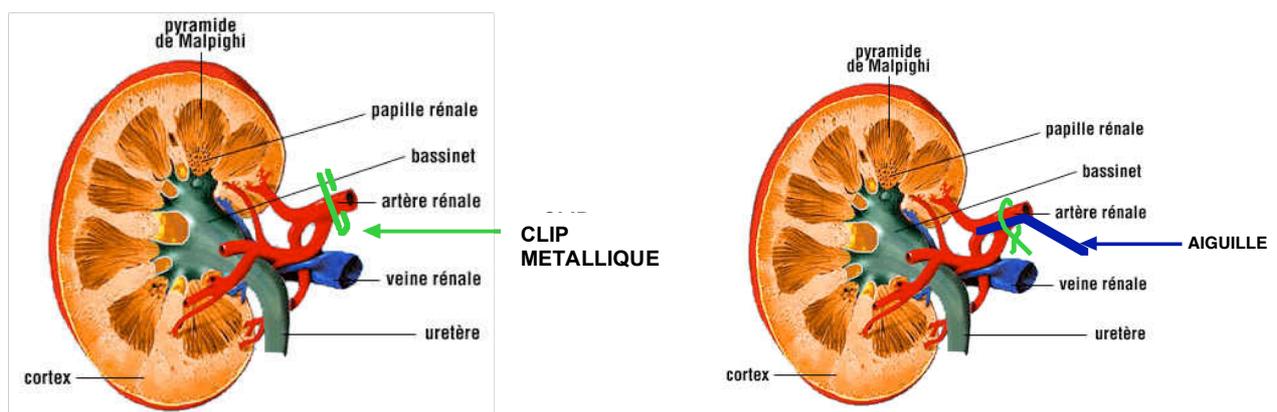


Figure 2 : Comparaison des 2 types de sténoses

- la pose d'un clip métallique. Les épaisseurs testées ont été : 0,22 ; 0,23 ; 0,25 mm (figure 3).



Figure 3 : Schéma d'un clip

- la mise en place d'une ligature enserrant l'artère et une aiguille de diamètre connu (figure 2). L'aiguille est retirée après réalisation complète de la ligature permettant ainsi la reperfusion du rein. Plusieurs diamètres d'aiguilles ont été testés : 0,4 ; 0,5 ; 0,6 mm.

La paroi musculaire et la peau sont ensuite suturées plan par plan avec du fil résorbable (Vicryl 3/0) et non résorbable (Ethibond 2/0), respectivement.

Afin d'effectuer une bonne évaluation du modèle 1K,1C, le groupe 1K,1C est comparé à un groupe témoin ayant subi la même procédure mais n'ayant eu ni sténose, ni ablation du rein droit. En fin d'opération, un antalgique, est administré à la dose de 0,05 mg/kg, en sous-cutané et ce traitement est suivi sur 2 à 3 jours (temgésic®, Schering Plough, France).

Après l'opération, une échographie rénale est effectuée afin de contrôler la baisse de flux rénal. Tout animal n'ayant plus de flux est réopéré. En cas de deuxième mesure non conforme, l'animal est récusé pour la suite du protocole. Cette procédure dure en totalité entre 1h30 et 2h. L'échographie pré- et post-opératoire a permis de réduire le taux de mortalité : sur les 5 semaines qui suivent l'opération, nous avons observé un taux de mortalité de 18%, généralement du fait d'une IC trop sévère.

2.2. Validation du modèle

Pour une meilleure compréhension, nous précisons que les lapins ayant subi l'opération ont dû être séparés en deux groupes au moment de la validation, du fait de deux évolutions différentes de la pathologie. Un groupe est nommé le groupe 1K,1C(HVG) et l'autre 1K,1C(IC).

2.2.1. Mesures hémodynamiques

5 et 10 semaines après la chirurgie, les animaux sont évalués sur le plan hémodynamique. Toutes les mesures sont réalisées chez l'animal conscient.

Chaque lapin est placé dans une boîte de contention. Suite à une anesthésie locale (Emla 5%, Astra Zeneca, Suède), un cathéter est introduit dans l'artère centrale d'une oreille. Ce cathéter est connecté à un transducteur (Statham P23 DB transducer, Gould Electronique, Courtaboeuf, France), lui-même relié à une table traçante (Gould BS271, France) et à un logiciel d'acquisition de données (Biocal, Bioseb, France). Les pressions artérielles systolique (PAS), diastolique (PAD) et moyenne ($PAM = PAD + 1/3 * (PAS - PAD)$), et la fréquence cardiaque (FC) peuvent alors être enregistrées en continu.

2.2.2. Evaluation de la morphologie et de la fonction cardiaque par échocardiographie

5 et 10 semaines après l'opération, une échocardiographie complète est réalisée chez l'animal conscient. Pour la mise en place du modèle, nous avons dû déterminer la position de l'animal la mieux adaptée à nos études. Pour cela nous avons effectué l'échocardiographie en positionnant l'animal de 3 façons différentes : sur le dos, sur le ventre et sur les pattes arrières, position que nous nommerons la position debout dans la suite du travail (figure 4). Des groupes différents ont été utilisés pour chaque position (sur le dos n=28, sur le ventre n=27 et en position debout n=33).



Figure 4 : Photos des différentes positions de l'animal, avec le positionnement de la sonde. (A) sur le dos, (B) sur le ventre et (C) en position sur les pattes arrières (position debout).

L'échocardiographe utilisé est un appareil Sonos 5500 équipé d'une sonde sectorielle de 12MHz. Pour la réalisation de l'échographie chez le lapin, nous avons suivi le protocole décrit chez l'Homme avec quelques adaptations en fonction de la position du cœur. Une analyse du VG en mode TM est ainsi réalisée à partir de coupes paraternelles bidimensionnelles en grand axe et petit axe. Similairement à l'Homme, les diamètres télédiastolique (DTD) et télésystolique (DTS) sont définis respectivement comme le plus grand et le plus petit diamètre du VG. Une évaluation de la fonction systolique du VG peut alors être réalisée en calculant la fraction d'éjection ($FE = [(VTD - VTS)/VTD] * 100$, VTD et VTS = volumes télé-diastolique et -systolique, respectivement) et la fraction de raccourcissement ($FR = [(DTD-DTS)/DTD] * 100$) dans les deux coupes. Les épaisseurs de la paroi postérieure du VG (PP) et du septum inter-ventriculaire sont mesurées en mode TM en fin de diastole et de systole à partir de la coupe parasternale grand axe (à l'extrémité des piliers de la valve mitrale). La fonction systolique est aussi évaluée en mesurant la fraction de raccourcissement au niveau de l'endocarde (à mi-paroi) ($FR_{md} = [(DTD + Hd) - (DTS + Hs)] / (DTD + Hd) * 100$, H représentant la moitié de la somme des PP et S, d et s précisant en diastole et en systole, respectivement). La masse du VG est calculée à partir d'une formule : $m_{VG} = 0.61[(PW+S+EDD)^3 - EDD^3] + 2.8$, formule choisie en se référant à une étude antérieure réalisée chez le lapin (Plehn et al., 1993). Cette formule se base comme pour l'Homme sur un modèle de géométrie cubique et les index ont été calculés à partir d'une courbe de régression de la masse du VG pesée en fonction de la formule cubique. L'épaisseur relative des parois est mesurée à partir de la formule : $ERP = (2 * PPd / DTD) * 100$.

Le débit cardiaque (Q) est calculé à partir du diamètre de l'aorte (DAo), mesuré en mode TM de la coupe grand axe, de la fréquence cardiaque (FC) et de l'intégrale temps-vitesse (ITV) du flux aortique qui sont mesurés sur une coupe 5 cavités en plaçant la fenêtre Doppler juste en amont de la valve aortique. La formule utilisée est $Q = (DAo/2)^2 * VTI * FC$.

La fonction diastolique est évaluée à partir d'une coupe 4 cavités, avec une analyse des flux transmitral et pulmonaire et une analyse de la vitesse de déplacement de l'anneau mitral en Doppler tissulaire (DTI). Pour le flux mitral, la fenêtre Doppler est placée entre les extrémités supérieures des 2 valves mitrales. Les paramètres mesurés comportent : la vitesse des ondes E (early) et A (atrial), le temps de décélération de l'onde E (TDE) et la durée de l'onde A (DurA). Le rapport E/A est calculé. Le temps de relaxation isovolumique (TRIV) est mesuré en plaçant la fenêtre doppler entre les valves mitrale et aortique. Le flux veineux pulmonaire est enregistré sur veine pulmonaire droite/gauche supérieure en se guidant avec le Doppler

couleur. Les paramètres mesurés sont : la vitesse des ondes systolique (S), diastolique (D) et atrial reversée (Ar) et la durée de l'onde Ar (DurAr). La différence entre la durée des ondes Ar et A est calculée. Le Doppler tissulaire (DTI) permet d'évaluer la fonction diastolique indépendamment de la précharge, en mesurant la vitesse des ondes Ea (early), Aa (atrial) et Sa (systolic) de l'anneau mitral sur le côté septal et latéral. Dans la validation du modèle, nous avons mesuré ces valeurs sur les deux côtés, mais par la suite nous n'avons pris les valeurs que sur le côté septal du fait d'une meilleure fenêtre acoustique, comme chez l'Homme. Les rapports Ea/Aa et E/Ea sont calculés. Ainsi, une évaluation complète similaire à celle effectuée chez l'Homme a pu être réalisée.

2.2.3. Cathétérisme intra-ventriculaire

Les mesures hémodynamiques dans le ventricule gauche sont réalisées 10 semaines après l'opération. Une anesthésie à l'isoflurane est induite chez l'animal à 3.5% puis maintenue à 2.5%. Une anesthésie locale avec de la lidocaïne est effectuée entre 2 côtes au niveau du 4^{ème} espace inter-costal. Un cathéter est connecté au transducteur Statham Db23, lui même connecté à un système d'acquisition de données (Biocal, Bioseb, France) et à une table traçante. Le cathéter est directement introduit dans le VG par ponction cardiaque. Différents paramètres sont alors enregistrés pendant 1 minute après une période de stabilisation de 5 minutes : les pressions ventriculaires télé-diastoliques et -systoliques (PDTVg et PDSVg), la pression systolique, l'indice de tau (τ), dP/dt min et dP/dt max et la fréquence cardiaque (FC).

2.2.4. Analyse post-mortem

En fin d'étude, c'est à dire 10 semaines post-opératoire pour les lapins 1K,1C(HVG) et la majorité des lapins témoins, et 5 semaines pour les lapins 1K,1C(IC) et quelques lapins témoins, les animaux sont sacrifiés par injection intra-veineuse d'une dose létale de pentobarbital sodique.

Les poumons, le rein et le cœur des lapins témoins et 1K,1C sont prélevés et pesés. Les 4 cavités cardiaques sont pesées séparément, une rondelle du ventricule gauche est placée dans du formol et le reste est congelé à -80° après avoir été plongé dans de l'azote liquide.

2.2.5. Histologie

Après être restée au moins 15 jours dans le formol, chaque rondelle de VG est placée dans une cassette numérotée et fermée. La phase d'inclusion dans la paraffine est réalisée par le service d'anatomie pathologique dirigé par le Dr. Gasser à l'hôpital Emile Muller à Mulhouse.

Des coupes de $4\mu\text{m}$ d'épaisseur sont alors réalisées à partir du bloc de paraffine. Ces coupes sont montées sur lame lysinée et les lames sont mises à sécher dans une étuve à 37°C pendant 4 heures.

2 types de colorations sont réalisés :

➤ *Hématoxyline-Eosine*

Dans un premier temps les lames sont réhydratées par trempages successifs dans un bain de xylène, d'alcool puis d'eau. Les prélèvements sont alors incubés dans un bain d'hématoxyline pendant 3 minutes (surgipath synthelabo) puis rincés par un passage rapide à l'eau courante. Les coupes sont différenciées sous un filet d'un mélange d'alcool pur, d'eau distillée et d'HCl, puis rincées à l'eau courante. L'étape suivante est la coloration des coupes dans un bain d'éosine pendant 5 minutes. Les lames sont ensuite rincées à l'eau courante et trempées dans un bain d'alcool et de xylène avant d'être montées sur lamelle.

Cette coloration permet de visualiser les noyaux cellulaires en noir (hématoxyline) et le liquide intra-cytosolique en rouge (éosine). A partir de ces lames nous pouvons mesurer la taille des cardiomyocytes. Nous avons pour cela mesuré le diamètre des cardiomyocytes coupés transversalement et corrigé cette mesure afin d'avoir les valeurs en millimètres carrés. Cette étude est faite à l'aide du logiciel Image J.

➤ *Trichrome de Masson*

Cette coloration se réalise en 7 stades : (1) réhydratation des lames par leur passage successif dans un bain de xylène, d'alcool et d'eau ; (2) Bain d'hématoxyline pendant 3 minutes puis rinçage à l'eau courante ; (3) Bain dans le colorant Ponceau-Fushine pendant 5 minutes puis rinçage rapide sous l'eau courante ; (4) Bain d'acide phosphomolybdique (1% p/v) pendant 5 minutes ; (5) directement après le dernier bain, les lames sont incubées 2 à 5 minutes dans une solution de bleu d'aniline (1g dans 2,5 ml d'acide acétique et 100 ml d'eau distillée) ; (6) différenciation dans un bain d'acide acétique (1:100 v/v d'eau distillée) et (7) réhydratation (0,1 ml d'acide acétique dans 100ml d'éthanol) puis montage sur lamelle.

Cette coloration permet de visualiser les dépôts de collagène (bleu), les noyaux (noir) et le cytoplasme (rouge). Il est ainsi possible de déterminer la présence d'une fibrose interstitielle et d'une fibrose péri-vasculaire.

2.2.6. Analyse sanguine

A 5 et 10 semaines, dans les différents groupes de lapins conscients, du sang est prélevé dans un tube hépariné. Il est centrifugé pendant 10 min à 2500 tr/min, le plasma est récupéré et congelé à - 20°C. Les concentrations plasmatiques d'urée, de créatinine, de sodium, de potassium, de chlore et de protéines ont été mesurées. Les résultats des lapins 1K,1C(IC) et 1K,1C(HVG) ont chacun été comparés avec les valeurs chez les lapins témoins à 5 et 10 semaines, respectivement.

2.2.7. Statistiques

- ❖ La comparaison de 2 groupes est effectuée avec le test t de Student non apparié. Les données sont rapportées à la valeur moyenne \pm SEM.
- ❖ La comparaison de plus de 2 groupes est réalisée par le test de variance ANOVA qui est suivi par le test de Bonferroni afin de localiser les différences entre les groupes.
- ❖ La significativité de la corrélation (corrélation mVG écho/mVG pesée et de la corrélation tau/TRIV) est estimée en utilisant le test de Pearson.
- ❖ Une étude de variabilité est effectuée pour les mesures échocardiographiques dans le groupe de lapins en position debout. Pour cela, nous avons utilisé la méthode de Bland et Altman (Bland and Altman, 1986). La variabilité est exprimée comme la moyenne des différences entre 2 observations \pm 2 fois l'écart-type (coefficient de variation). Lorsque la variabilité est faible, la moyenne des différences approche de 0, et le coefficient de variation doit être faible. La variation entre 2 mesures est également calculée comme la différence moyenne entre les observations, divisée par la moyenne des observations et exprimée en pourcentage d'erreur.

Pour toutes ces études le seuil de significativité est fixé aux valeurs de $*p \leq 0,05$.

3. RESULTAT 1 : CHOIX DE LA PROCEDURE DE STENOSE

3.1. Sténose par clip

Pour la réalisation du modèle 1K,1C chez le lapin, nous avons suivi le protocole décrit par une étude de ND McElroy et al. (McElroy and Zimmerman, 1990). L'hypertension y est induite chez le lapereau en posant un clip de 0,22 cm d'épaisseur. Cependant, dans notre étude, nous avons obtenu une forte mortalité, 2/3 des lapins opérés sont morts dans les 3 semaines suivant l'opération, dont 63 % le lendemain de l'opération. Nous avons alors testé des clips de 0,23 et 0,25 cm d'épaisseur sur 2 groupes de 3 lapins, mais nous avons eu 100 % de mortalité dans les 2 groupes. Une hypothèse pour expliquer cette forte mortalité pourrait être qu'en remettant le rein dans l'abdomen après la pose du clip, ce dernier vrille et bloque ainsi totalement le flux rénal.

Nous avons donc décidé de réaliser une sténose par ligature.

3.2. Sténose par ligature

Aucune étude n'avait décrit ce type de sténose dans le modèle 1K,1C, il nous a donc fallu déterminer un diamètre de sténose adéquat. 3 diamètres d'aiguilles ont été testés : 0,4 ; 0,5 ; 0,6 mm. Nous avons pu vérifier ces sténoses par échographie rénale et suivre les conséquences cardiaques par échocardiographie.

3 lapins ont eu une sténose à 0,4 mm, le flux rénal passe de 38 à 10 cm/s en pré- et post-opératoire respectivement, soit une chute de 74 %. Au niveau de la sténose, nous avons mesuré une vitesse de flux de 223 cm/s. Mais dans les 15 jours suivant l'opération, nous avons eu 100 % de mortalité.

Nous avons alors testé une sténose de 0,5 mm de diamètre chez 6 lapins. Le flux rénal passe de 40 ± 1 à 12 ± 3 cm/s en pré- et post-opératoire respectivement, soit une chute de 70 %. Au niveau de la sténose nous avons mesuré une vitesse de flux de 185 ± 12 cm/s. Mais sur les 6 lapins opérés, 1 est mort le lendemain de l'opération et 3 autres ont développé une insuffisance cardiaque sévère au bout de 15 jours (fraction de raccourcissement égale à 10 ± 1 % et fréquence cardiaque de 286 ± 13 bpm).

Le diamètre adéquat de la sténose a été de 0,6 mm. Sur l'ensemble des lapins opérés, nous avons obtenu 18 % de mortalité dans les 5 semaines suivant l'opération. Le flux rénal est

diminué de 61 %, avec un flux passant de 36 ± 1 à 14 ± 1 cm/s en pré- et post-opératoire respectivement (figures 5, figure 6 A, B et D). Au niveau de la sténose, la vitesse moyenne du flux sanguin est de 151 ± 7 cm/s (figure 6C).

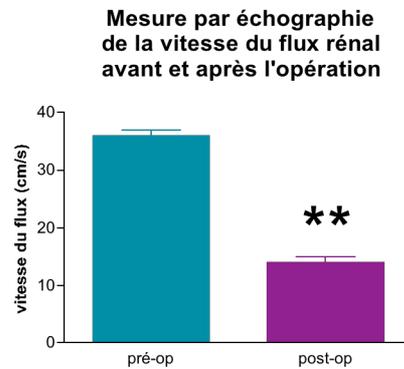


Figure 5 : Comparaison du flux rénal gauche avant et après la pose du clip durant l'opération par le test de Student $**p < 0,01$.

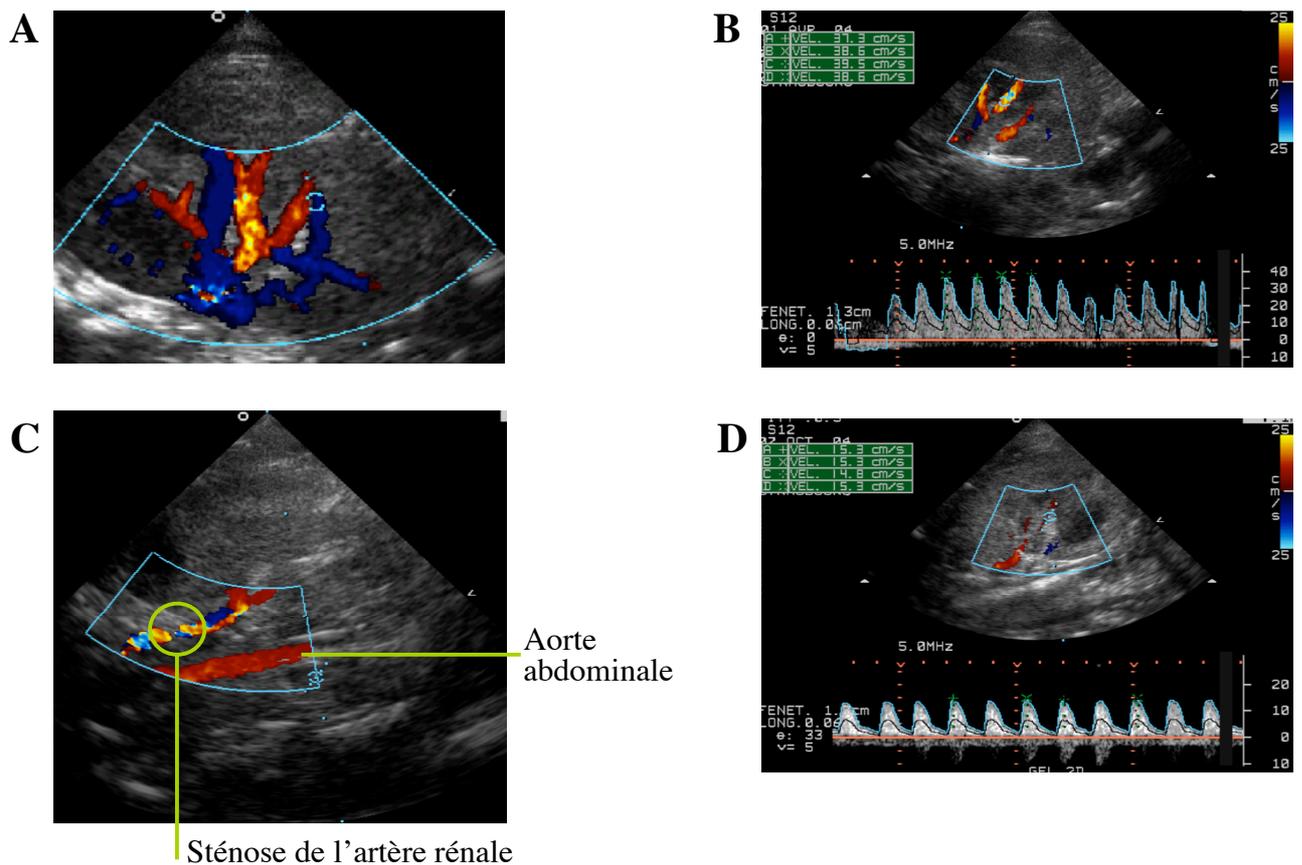


Figure 6 : Echographie rénale. A. Coupe longitudinale du rein gauche en Doppler Couleur, artères en rouge et veines en bleu. B. Mesure du flux intra-rénal par Doppler pulsé avant l'opération. C. Visualisation de la sténose de l'artère rénale par Doppler Couleur. D. Mesure du flux intra-rénal par Doppler pulsé après la sténose.

3.3. Conclusions

Toutes les opérations ont donc été effectuées sous le contrôle d'une échographie rénale et en réalisant une sténose standard par ligature avec une aiguille de 0,6 mm.

4. RESULTATS 2 : CONSEQUENCES HEMODYNAMIQUES ET RENALES DE LA CHIRURGIE

Les lapins ayant subi une opération sans néphrectomie ni sténose ont été nommés témoins, et ceux ayant subi une néphrectomie et une sténose de l'artère rénale gauche ont été nommés 1K,1C.

Comme précisé dans le paragraphe 2.2 de la partie « matériel et méthodes », 5 semaines après l'opération, nous avons dû sous-grouper le groupe 1K,1C. En effet, 60 % ont développé une hypertension artérielle et 40 % une insuffisance cardiaque congestive avec absence d'hypertension. Nous avons donc nommé ces groupes respectivement, 1K,1C(HVG) et 1K,1C(IC).

4.1 Lapins 1K,1C(HVG)

4.1.1 Pression artérielle et fréquence cardiaque

5 semaines après l'opération, nous avons dans un premier temps validé notre modèle sur 10 lapins témoins et 12 lapins 1K,1C(HVG), en mesurant la pression artérielle par voie sanglante dans l'artère centrale de l'oreille, ceci en plaçant l'animal éveillé dans une boîte de contention et en immobilisant la tête. Mais cette immobilisation a induit un important stress, les pressions artérielles systoliques (PAS), diastoliques (PAD) et moyennes (PAM) des lapins témoins et 1K,1C(HVG) étaient alors de 90 ± 3 et 145 ± 4 mmHg, de 71 ± 2 et 108 ± 3 mmHg et de 79 ± 2 et 120 ± 3 mmHg, respectivement. La fréquence cardiaque (FC) était de 227 ± 9 et 234 ± 8 bpm, dans les groupes témoin et 1K,1C(HVG), respectivement.

Nous avons par la suite décidé d'effectuer ces mesures en laissant la boîte ouverte pour réduire au maximum le stress qui est un important facteur influençant les valeurs de la pression et de la fréquence cardiaque. Nous avons quand même observé dans 2 autres groupes

(7 lapins témoins et 16 lapins 1K,1C(HVG)), subissant un moins fort stress, une augmentation importante de la pression artérielle chez le lapin 1K,1C(HVG). Les PAS, PAD et PAM augmentent de 87 ± 1 à 133 ± 2 mmHg, de 67 ± 1 à 108 ± 2 mmHg et de 75 ± 1 à 116 ± 2 mmHg (figure 7A) respectivement, comparé au groupe témoin. La fréquence cardiaque est inchangée (Figure 7B). Nous avons donc gardé ces dernières valeurs comme référence, et toutes les mesures ultérieures ont été effectuées en laissant la boîte de contention ouverte.

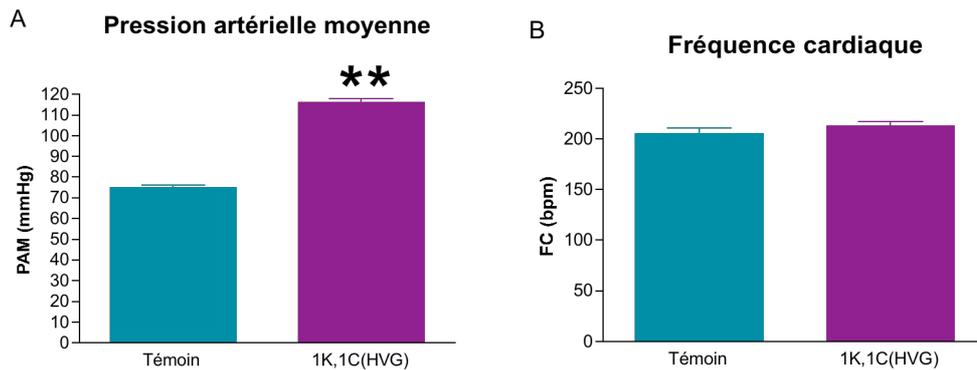


Figure 7 : Comparaison de la pression artérielle moyenne (A) et de la fréquence cardiaque (B), 5 semaines après l’opération entre les groupes témoin et 1K,1C(HVG) par le test t non apparié de Student $**p<0,01$.

10 semaines après l’opération, l’hypertension artérielle est maintenue, les PAS, PAD et PAM sont respectivement 136 ± 2 , 111 ± 4 et 119 ± 3 mmHg, alors que pour le groupe témoin, elles sont respectivement de 82 ± 1 , 63 ± 1 et 69 ± 1 mmHg. La fréquence cardiaque est de 204 ± 10 et 213 ± 5 bpm dans les groupes 1K,1C (HVG) et témoin, respectivement.

4.1.2 Dosages sanguins

	<i>Urée</i> (mmol/l)	<i>Créatinine</i> (mmol/l)	<i>Protéines</i> (g/l)	<i>Sodium</i> (mmol/l)	<i>Potassium</i> (mmol/l)	<i>Chlore</i> (mmol/l)
2) Témoin	$5\pm 0,3$	83 ± 4	$50\pm 0,5$	$146\pm 0,5$	$5,7 \pm 0,2$	101 ± 1
1K,1C(HVG)	$7,6\pm 0,7$	116 ± 7	$48\pm 0,5$	$146\pm 0,9$	$6,2\pm 0,4$	103 ± 2
significativité	p<0,01	p<0,01	P<0,05	ns	ns	ns

Tableau 1 : comparaison des dosages sanguins entre les lapins témoins et les lapins 1K,1C(HVG), 10 semaines post-opératoire, effectuée par le test t non apparié de Student.

La fonction globale du rein est quantifiée par la filtration glomérulaire, qui peut être mesurée par deux marqueurs : la créatinine, le marqueur le plus utilisé et l'urée, un marqueur moins fiable, qui à lui seul ne permet pas de faire de diagnostic sur la fonction rénale. Le taux de créatinine et d'urée sont inversement liés à la filtration glomérulaire (site internet : www.nephrohus.org). Ainsi, l'augmentation significative des concentrations d'urée et de créatinine que nous observons, met en évidence une altération de la fonction rénale. Cependant, cette insuffisance rénale n'a pas de conséquence néfaste sur l'équilibre hydrosodé ou la kaliémie, les paramètres sont comparables à ceux des lapins témoins. Mais le taux de protéines globales est réduit (tableau 1).

Par ailleurs, la pesée du rein gauche, après le sacrifice de l'animal, montre une augmentation du poids du rein comparé au rein gauche d'un animal témoin : $14,1 \pm 0,6$ vs $9,4 \pm 0,3$ g ($p < 0,05$) dans les groupes 1K,1C(HVG) et témoin respectivement. Cependant, cette augmentation n'équivaut pas au poids des deux reins de l'animal témoin ($20,3 \pm 1$ g). La masse rénale dans le groupe 1K,1C(HVG) est inférieure à celle du groupe témoin. Le rein ne retrouve donc pas une capacité rénale fonctionnelle suffisante.

Ce modèle présente donc une insuffisance rénale sans altération de la natriurie et de la kaliémie.

4.2 Lapins 1K,1C(IC)

4.2.1 Pressions artérielles et fréquence cardiaque

5 semaines après l'opération, ce groupe ne développe pas d'hypertension significative : les PAS, PAD et PAM sont respectivement de 99 ± 9 , 71 ± 7 et 81 ± 8 mmHg versus 90 ± 3 , 71 ± 2 et 79 ± 2 mmHg dans le groupe témoin (figure 8A). Par contre, nous observons une forte tachycardie, la fréquence passe de 234 ± 8 à 283 ± 10 bpm comparée au groupe témoin ($p < 0,01$) (figure 8B).

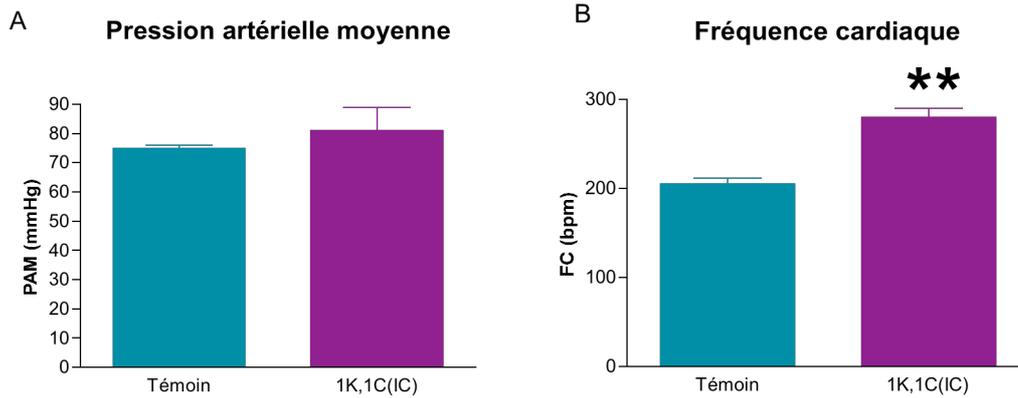


Figure 8 : Comparaison de la pression artérielle moyenne (A) et de la fréquence cardiaque (B), 5 semaines après l’opération entre les groupes témoin et 1K,1C(IC) par le test t non apparié de Student ****p<0,01**.

4.2.2 Dosages sanguins

	<i>Urée</i> (mmol/l)	<i>Créatinine</i> (mmol/l)	<i>Protéines</i> (g/l)	<i>Sodium</i> mmol/l	<i>Potassium</i> (mmol/l)	<i>Chlore</i> (mmol/l)
3) Témoin	5±0,3	81±4,7	45±1,1	147±3,0	5,0 ±0,4	102±1
1K,1C(IC)	9±2,1	103±12	46±2,4	157±5,2	6,2±0,5	110±4
Significativité	p<0,05	p=0,05	p=0,05	p<0,05	ns	p<0,05

Tableau 2 : Comparaison des dosages sanguins entre les lapins témoins et les lapins 1K,1C(IC) 5 semaines post-opératoire par le test t non apparié de Student.

L’augmentation significative des concentrations plasmatiques d’urée et de créatinine met en évidence une baisse de la filtration glomérulaire et donc une altération de la fonction rénale chez les lapins 1K,1C(IC). Cette insuffisance rénale, à l’inverse du lapin 1K,1C(HVG), est accompagnée d’un déséquilibre hydro-sodé. En effet, la concentration sodique est élevée, entraînant une déshydratation intra-cellulaire. Lorsque la filtration glomérulaire est fortement réduite, elle peut-être accompagnée d’une hyperkaliémie. Dans notre groupe 1K,1C(IC), cette valeur tend à être augmentée mais cela n’est pas significatif. Le taux de protéines est réduit et la concentration de chlore est augmentée, cette dernière n’allant cependant pas dans le sens de l’hypernatrémie (tableau 2).

Par ailleurs, nous avons observé une augmentation du poids du rein gauche comparé au groupe témoin (10,9±0,6 vs 9,4±0,2 g, p<0,05). Cette différence est d’autant plus significative

lorsque nous rapportons ce paramètre au poids de l'animal ($4,9\pm 0,2$ vs $2,9\pm 0,1$ g pour les groupes témoin et 1K,1C(IC) respectivement, $p<0,001$). Les lapins 1K,1C(IC) développent donc également une insuffisance rénale.

Nous n'observons aucune différence significative des concentrations d'urée et de créatinine, ou du poids des reins, entre les animaux 1K,1C(HVG) et 1K,1C(IC). Ils ont donc une insuffisance rénale équivalente, avec cependant une augmentation de la rétention sodée chez le lapin 1K,1C(IC) reflétant une hypervolémie.

4.3 Conclusion

Ces 2 modèles iatrogènes développent une insuffisance rénale, avec la présence d'une hypernatrémie dans le modèle 1K,1C(IC).

Une hypertension artérielle n'est observée que dans le groupe 1K,1C(HVG).

5 RESULTATS 3 : EVALUATION DE LA FONCTION CARDIAQUE DANS LE MODELE 1K,1C DE GOLDBLATT

⇒ *Choix d'une position adaptée pour l'échocardiographie*

Les échocardiographies ont toutes été effectuées chez le lapin conscient. Nous avons, dans un premier temps, cherché à déterminer la position de l'animal la plus appropriée pour l'examen.

Dans un premier temps, nous avons choisi d'effectuer les échocardiographies en positionnant le lapin sur le dos (**position dorsale**) ; deux personnes sont alors nécessaires pour effectuer la manipulation. Cette position nous permet d'obtenir la meilleure fenêtre acoustique pour effectuer une évaluation complète de la fonction diastolique (flux mitral, flux pulmonaire, DTI à partir d'une coupe 4 cavités) et de la fonction systolique (coupes TM grand et petit axes). Par contre, elle induit en même temps un stress important, mais variable suivant les animaux. Ce stress ne s'atténue pas chez tous les animaux avec un entraînement.

Nous avons également choisi la position la plus physiologique pour l'animal : posé sur ses 4 pattes (**position ventrale**), sur les genoux de l'expérimentateur qui peut alors effectuer seul la manipulation. Dans cette position, le stress est alors très réduit.

La troisième position testée a été la **position debout** (sur ses deux pattes arrières), sur les genoux de l'expérimentateur qui peut alors effectuer seul l'examen échocardiographique.

Afin de déterminer la position la plus adaptée, nous avons fait une comparaison des 3 positions dans les trois groupes de lapins : Témoin, 1K,1C(HVG) et 1K,1C(IC). Nous avons ainsi évalué les fonctions systolique et diastolique, et le remodelage du VG. Une limite de cette étude est que des groupes différents ont été utilisés pour chaque position.

Chacun des tableaux (tableaux 3, 4 et 5) présentés ci-dessous, présentent un groupe dans les 3 positions testées.

Paramètres	dos	ventre	debout
<u>Echocardiographie 2D (grand axe)</u>			
DTD (mm)	14,8 ± 0,4	15,9 ± 0,3	16,4 ± 0,2
DTS (mm)	10,1 ± 0,5	10,8 ± 0,3	11,0 ± 0,1
FR (%)	32 ± 2,0	32 ± 1,0	33 ± 0,9
FE(%)	63 ± 2,5	64 ± 1,5	65 ± 2,0
FR mi-paroi (%)	23 ± 3	21 ± 1,2	23 ± 0,8
Épaisseur septum (mm)	1,8 ± 0,04	1,9 ± 0,1	1,8 ± 0,1
Épaisseur paroi postérieure (mm)	1,8 ± 0,1	1,9 ± 0,1	1,8 ± 0,1
Épaisseur relative des parois (%)	25 ± 1	24 ± 1,8	23 ± 0,8
Masse VG (g)	2,9 ± 0,1	3,6 ± 0,2 *	3,6 ± 0,1 *
Masse VG/poids corps (g/kg)	1,4 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,5 ± 0,1
Fréquence cardiaque (bpm)	218 ± 12	192 ± 6,7	193 ± 13
Débit cardiaque (ml/min)	585 ± 27	612 ± 43	812 ± 67 ** §
<u>Flux mitral</u>			
Vitesse de l'onde E (cm/s)	71,3 ± 7,0	48,2 ± 1,9 *	53,4 ± 2,0
Vitesse de l'onde A (cm/s)	52,2 ± 4,5	45,5 ± 3,4	44,5 ± 3,0
E/A	1,4 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,2 ± 0,1
TDE (ms)	46,5 ± 2,7	38 ± 1,5	41 ± 3,0
Durée de l'onde A (ms)	48,7 ± 3,9	52 ± 2,6	51 ± 2,5
TRIV (ms)	40,4 ± 1,4	39 ± 0,5	44 ± 2,3
<u>Flux veineux pulmonaire</u>			
Vitesse de l'onde S (cm/s)	34,7 ± 2,3	37,9 ± 3,4	37,8 ± 2,7
Vitesse de l'onde D (cm/s)	40,3 ± 2,9	49,8 ± 3,0	44,5 ± 4
S/D	0,9 ± 0,1	0,8 ± 0,0	0,8 ± 0,04
Vitesse de l'onde Ar (cm/s)	15,8 ± 1,3	14,3 ± 0,5	14,7 ± 0,9
Durée de l'onde Ar (ms)	28,3 ± 1,3	40 ± 1,7 **	39 ± 2,2 **
Durée(Ar - A) (ms)	-20,4 ± 3,3	-12,4 ± 3,0	-12,7 ± 3,1
<u>Vitesse de l'anneau mitral (lateral)</u>			
Vitesse de l'onde Ea (cm/s)	6,0 ± 0,5		7,0 ± 0,2
Vitesse de l'onde Aa (cm/s)	5,0 ± 0,4		5,3 ± 0,2
Vitesse de l'onde Sa (cm/s)	6,7 ± 0,4		7,1 ± 0,2
Ea/Aa	1,3 ± 0,1		1,3 ± 0,03
E/Ea	12,2 ± 1,1		7,7 ± 0,4
<u>Vitesse de l'anneau mitral (septal)</u>			
Vitesse de l'onde Ea (cm/s)	5,8 ± 0,4		6,2 ± 0,3
Vitesse de l'onde Aa (cm/s)	4,8 ± 0,3		5,0 ± 0,3
Vitesse de l'onde Sa (cm/s)	6,0 ± 0,4		6,4 ± 0,3
Ea/Aa	1,2 ± 0,1		1,3 ± 0,1
E/Ea	13,0 ± 1,4		8,7 ± 0,5

Tableau 3 : Comparaison des échocardiographies effectuées sur le dos (n=10), sur le ventre (n=7) et en position debout (n=7) chez les lapins témoins, réalisée par le test ANOVA avec *p<0,05, **p<0,05 dos vs ventre et dos vs debout.

Paramètres	dos	ventre	debout
<u>Echocardiographie 2D (grand axe)</u>			
DTD (mm)	14,3 ± 0,4	16,7 ± 0,4 **	16,5 ± 0,3 **
DTS (mm)	9,4 ± 0,4	11,3 ± 0,4 **	11,0 ± 0,3 **
FR (%)	35 ± 1,7	33 ± 1,1	33 ± 0,9
FE(%)	68 ± 2,2	64 ± 1,6	65 ± 1,3
FR mi-paroi (%)	16±2	24 ± 1,7 **	22 ± 0,9 **
Epaisseur septum (mm)	2,5± 0,2	3,1 ± 0,2	2,7 ± 0,1
Epaisseur paroi postérieure (mm)	3,0 ± 0,1	3,0 ± 0,1	2,7 ± 0,1
épaisseur relative des parois (%)	42±2	36 ± 1,9	33 ± 1,5 **
Masse VG (g)	4,9 ± 0,4	7,3 ± 0,5	6,0 ± 0,3
Masse VG/poids corps (g/kg)	2,9 ± 0,1	3,1 ± 0,2	2,6 ± 0,1
Fréquence cardiaque (bpm)	241 ± 9,1	209 ± 7,5 *	211 ± 4,7 **
Débit cardiaque (ml/min)	774 ± 42	794 ± 87	849 ± 40
<u>Flux mitral</u>			
Vitesse de l'onde E (cm/s)	69,6 ± 4,5	40,4 ± 2,2 **	47,8 ± 2,2 **
Vitesse de l'onde A (cm/s)	52,6 ± 1,0	52,9 ± 1,6	55,5 ± 2,4
E/A	1,5 ± 0,6	0,8 ± 0,04 **	0,9 ± 0,04 **
TDE (ms)	41,5 ± 3,9	50 ± 5,3	49 ± 2,1
Durée de l'onde A (ms)	36,5 ± 4,0	61 ± 3,7 **	45 ± 2,2 *
TRIV (ms)	50,6 ± 1,3	53 ± 2,3	56 ± 1,8
<u>Flux veineux pulmonaire</u>			
Vitesse de l'onde S (cm/s)	45,4 ± 3,1	43,9 ± 1,9	44,9 ± 1,7
Vitesse de l'onde D (cm/s)	38,2 ± 2,2	37,2 ± 1,9	36,4 ± 1,3
S/D	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,3 ± 0,1
Vitesse de l'onde Ar (cm/s)	18,5 ± 1,3	18,4 ± 0,8	18,4 ± 0,8
Durée de l'onde Ar (ms)	39,4 ± 4,0	46 ± 1,6	44 ± 1,2
Durée(Ar - A) (ms)	2,9 ± 4,0	-15 ± 2,9 **	-5,3 ± 1,6 *
<u>Vitesse de l'anneau mitral (lateral)</u>			
Vitesse de l'onde Ea (cm/s)	5,3 ± 0,5		5,5 ± 0,4
Vitesse de l'onde Aa (cm/s)	6,6 ± 0,5		6,0 ± 0,3
Vitesse de l'onde Sa (cm/s)	6,2 ± 0,7		7,1 ± 0,3
Ea/Aa	0,9 ± 0,1		0,9 ± 0,1
E/Ea	14,0 ± 1,3		9,1 ± 0,7 *
<u>Vitesse de l'anneau mitral (septal)</u>			
Vitesse de l'onde Ea (cm/s)	4,7 ± 0,4		4,8 ± 0,2
Vitesse de l'onde Aa (cm/s)	5,0 ± 0,5		4,9 ± 0,2
Vitesse de l'onde Sa (cm/s)	5,8 ± 0,4		5,7 ± 0,3
Ea/Aa	0,9 ± 0,1		1,0 ± 0,1
E/Ea	15,9 ± 1,1		10,5 ± 0,8 **

Tableau 4 : Comparaison des échocardiographies effectuées sur le dos (n=12), sur le ventre (n=11) et en position debout (n=16) chez les lapins 1K,1C(HVG), réalisée par le test ANOVA avec *p<0,05, **p<0,05 dos vs ventre et dos vs debout et §p<0,05 ventre vs debout

Paramètres	dos	ventre	debout
<u>Echocardiographie 2D (grand axe)</u>			
DTD (mm)	24,2 ± 0,8	25,9 ± 1,1	22,4 ± 0,9
DTS (mm)	21,4 ± 0,8	22,7 ± 1,0	20,1 ± 0,9
FR (%)	10 ± 0,8	12 ± 0,9	10 ± 1,0
FE(%)	24 ± 1,6	28 ± 1,9	24 ± 2,4
FR mi-paroi (%)	7 ± 1,1	10 ± 0,9	7 ± 0,8
Epaisseur septum (mm)	2,0 ± 0,3	2,1 ± 0,1	1,9 ± 0,1
Epaisseur paroi postérieure (mm)	2,2 ± 0,1	1,8 ± 0,1	1,9 ± 0,2
épaisseur relative des parois (%)	18 ± 1,1	14 ± 1,0	17 ± 1,7
Masse VG (g)	8,9 ± 1,1	9,2 ± 0,9	6,9 ± 0,3
Masse VG/poids corps (g/kg)	4,0 ± 0,5	3,8 ± 0,3	3,4 ± 0,1
Fréquence cardiaque (bpm)	274 ± 16,2	254 ± 10,2	256 ± 8,0
Débit cardiaque (ml/min)	530 ± 154	368 ± 49 *	382 ± 69 *
<u>Flux mitral</u>			
Vitesse de l'onde E (cm/s)	92,4 ± 16,9	64,4 ± 3,5	69,8 ± 3,4
Vitesse de l'onde A (cm/s)	20,8 ± 10,2	19,2 ± 2,5	22,2 ± 3,4
E/A	13,2 ± 4,9	4,6 ± 1,4 *	4,7 ± 1,3 *
TDE (ms)	31 ± 4,8	25 ± 1,8	29 ± 1,5
Durée de l'onde A (ms)	16 ± 7,1	33 ± 3,8 *	31 ± 3,5 *
TRIV (ms)	46 ± 3,4	42 ± 2,4	49 ± 2,0
<u>Flux veineux pulmonaire</u>			
Vitesse de l'onde S (cm/s)	34,7 ± 5,8	32,0 ± 3,4	28,2 ± 4,4
Vitesse de l'onde D (cm/s)	37,0 ± 6,9	40,5 ± 3,6	39,0 ± 3,8
S/D	1,0 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,7 ± 0,1
Vitesse de l'onde Ar (cm/s)	23,0 ± 4,7	23,4 ± 1,4	20,9 ± 1,5
Durée de l'onde Ar (ms)	44 ± 4,5	51 ± 2,9	50 ± 2,3
Durée(Ar - A) (ms)	29 ± 7,2	20,1 ± 5,9	19,4 ± 3,4
<u>Vitesse de l'anneau mitral (lateral)</u>			
Vitesse de l'onde Ea (cm/s)	3,9 ± 0,8		4,2 ± 0,6
Vitesse de l'onde Aa (cm/s)	2,5 ± 0,6		4,2 ± 0,3
Vitesse de l'onde Sa (cm/s)	3,3 ± 0,5		4,7 ± 0,4
Ea/Aa	1,7 ± 0,3		1,0 ± 0,2
E/Ea	40,7 ± 20,7		18,4 ± 2,0
<u>Vitesse de l'anneau mitral (septal)</u>			
Vitesse de l'onde Ea (cm/s)	3,5 ± 0,5		3,5 ± 0,4
Vitesse de l'onde Aa (cm/s)	2,6 ± 0,3		4,0 ± 0,3
Vitesse de l'onde Sa (cm/s)	3,3 ± 0,3		4,2 ± 0,3
Ea/Aa	1,4 ± 0,2		0,9 ± 0,2
E/Ea	30,9 ± 8,2		19,6 ± 2,2

Tableau 5 : Comparaison des échocardiographies effectuées sur le dos (n=6), sur le ventre (n=9) et en position debout (n=10) chez les lapins 1K,1C(IC), réalisée par le test ANOVA avec *p<0,05 dos vs ventre et dos vs debout.

5.1 Fréquence cardiaque et fonction systolique

En position dorsale, dans les 3 groupes, nous avons observé une augmentation de la fréquence cardiaque indiquant un stress par rapport aux 2 autres positions. Elle augmente de 14%, 15% et 8% dans les groupes témoin, 1K,1C(HVG) et 1K,1C(IC) respectivement. Mais cette différence n'est significative que dans le groupe HVG ($p < 0,05$). L'absence de significativité dans le groupe 1K,1C(IC) peut s'expliquer par une tachycardie de base déjà très importante lors de l'évaluation hémodynamique, donc une forte augmentation est impossible.

Dans les groupes témoin et 1K,1C(HVG), les diamètres télé-systoliques et -diastoliques sont réduits lorsqu'ils sont placés sur le dos. Cela peut être expliqué par le fait que la tachycardie empêche le VG de se remplir totalement, réduisant ainsi le DTD, mais comme le VG garde une bonne contractilité, le DTS est aussi réduit permettant alors une systole normale. En effet, la baisse équivalente des deux diamètres induit un maintien des fractions d'éjection (FE) et de raccourcissement (FR) mesurées au niveau des fibres endocardiques, la FE est même légèrement augmentée.

L'évaluation de la fonction systolique ne se limite pas à une évaluation de la contractilité des fibres endocardiques (Aurigemma et al., 1995). L'évaluation de la contractilité des fibres à mi-paroi donne une meilleure analyse de la fraction de raccourcissement. Nous avons ainsi pu révéler une altération de la fonction systolique lorsque l'animal est placé sur le dos. En effet, dans le groupe 1K,1C(HVG), le positionnement sur le dos, un facteur de stress, induit une réduction significative de la FRmd ($p < 0,01$) comparé aux autres positions. Ce paramètre évalue la contractilité des fibres à mi-paroi et une étude a pu mettre en évidence une corrélation positive entre la FRmd et le flux coronaire (Sasaki et al., 2000). Ainsi, un stress pourrait induire une hypoperfusion et une ischémie pourrait être révélée par la baisse de la FRmd. La présence de l'hypoperfusion dans le VG hypertrophié est confirmée par le fait que le positionnement sur le dos n'affecte pas le paramètre de contractilité chez le lapin témoin, donc ce risque d'ischémie n'est pas présent dans un ventricule non-hypertrophié.

Chez les lapins 1K,1C(IC), les diamètres du VG ne sont pas modifiés par la position, et la FRmd que légèrement réduite. Cette valeur étant déjà fortement réduite dans ce groupe, une baisse plus importante de ce facteur pourrait être létale lors d'un effet de stress.

5.2 Fonction diastolique

Le placement des lapins témoins et 1K,1C(HVG) sur le dos induit de fortes modifications des paramètres diastoliques comparés aux deux autres positions. Par contre, les paramètres diastoliques dans les trois positions sont comparables chez les 1K,1C(IC).

Différents paramètres échocardiographiques permettent d'évaluer les pressions de remplissage du VG : la vitesse de l'onde E, le rapport E/A, le rapport E/Ea ou encore la différence entre les durées des ondes Ar et A. Nous avons ainsi pu montrer, dans les groupes témoins et 1K,1C(HVG), une augmentation des pressions de remplissage du VG. La vitesse de l'onde E du flux mitral est augmentée d'environ 40 % dans le groupe témoin par rapport aux 2 autres positions, et celle du groupe 1K,1C(HVG) est augmentée de 73% et 55% comparée aux positions ventrale et debout, respectivement. Cela se traduit par une augmentation du rapport E/A, significative pour le groupe 1K,1C(HVG), et une augmentation significative du rapport E/Ea, mesurée du côté latéral et septal de l'anneau mitral, dans les 2 groupes, par rapport à la position debout. Le DTI n'a pas pu être effectué sur le ventre du fait des difficultés à obtenir une fenêtre acoustique adaptée. Dans le groupe 1K,1C(HVG), le diagnostic d'une augmentation des pressions de remplissage, en position dorsale, est accentué par une diminution de la durée de l'onde A du flux mitral, et ainsi par une réversion du paramètre Dur(Ar-A). En effet, une augmentation des pressions de remplissage ventriculaire va réduire l'entrée du sang dans le VG lors de la phase active du remplissage (baisse de la durée de A), mais la contractilité de l'OG étant normale chez le lapin 1K,1C(HVG), le sang va retourner dans les veines pulmonaires du fait de l'absence de valve entre ces deux compartiments (augmentation de la durée de Ar). Dans le groupe 1K,1C(IC), l'absence de modification des pressions de remplissage en position dorsale est peut être due au fait que les pressions de remplissage sont déjà élevées, une augmentation supplémentaire est alors impossible.

5.3 Evaluation de la masse ventriculaire gauche

L'évaluation de ce paramètre (mVG) dépend beaucoup de la qualité de la fenêtre acoustique. Pour déterminer la position la plus adaptée, nous avons regroupé les groupes témoin et 1K,1C(HVG) dans chaque position. Nous n'avons pas inclus le groupe 1K,1C(IC) car le remodelage des insuffisants cardiaques est sphérique. L'équation calculant la masse du VG a

comme base une forme ellipsoïde, donc cette équation est moins adaptée au VG qui a pris une forme sphérique. De ce fait nous n'avons pris que les lapins ayant un VG de forme ellipsoïdale. Une corrélation des mVG mesurées par échocardiographie a alors été effectuée à 10 semaines post-opératoire avec la masse du VG pesée post-mortem au même âge. En rapportant ces masses au poids de l'animal, nous avons obtenu une corrélation positive significative pour chacune des positions, mais de qualité différente selon la position.

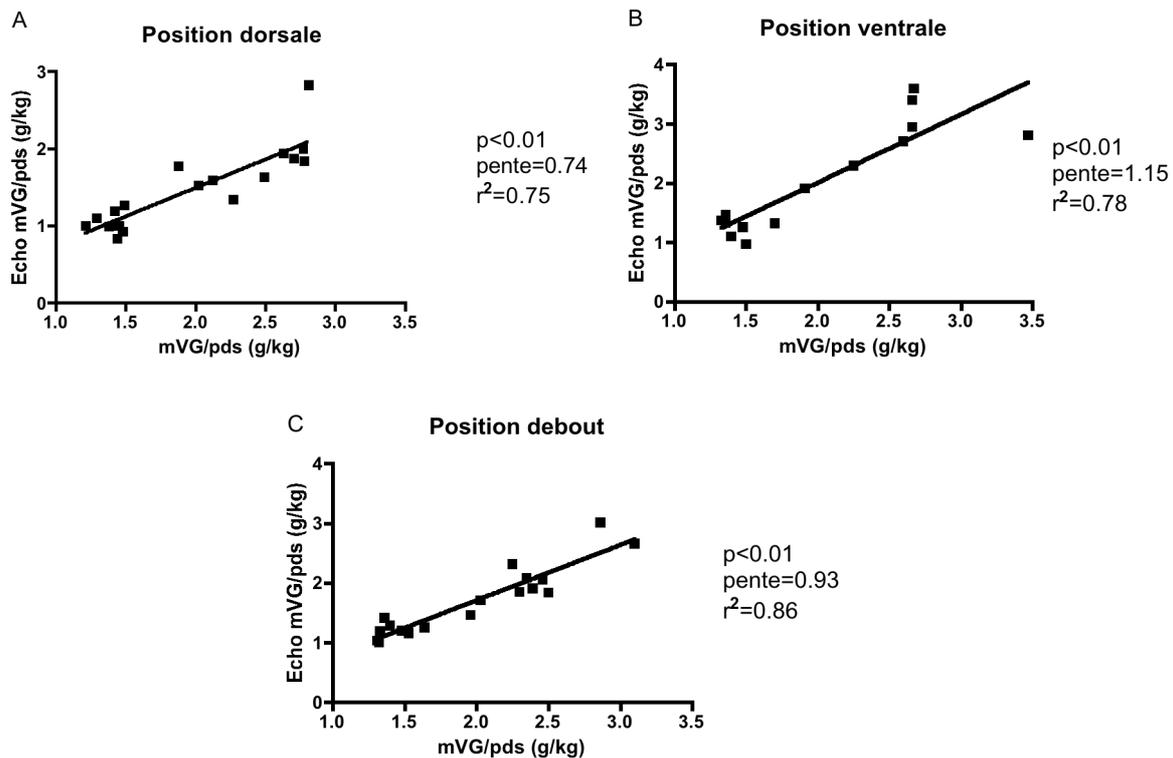


Figure 9 : Corrélation entre la masse du ventricule gauche rapportée au poids (mVG/pds) mesurée par échocardiographie et la mVG/pds obtenue par pesée directe dans les trois positions de l'animal: (A) position dorsale, (B) position ventrale et (C) position debout.

Sur le ventre, la masse est surévaluée, ceci serait dû à une fenêtre acoustique moins bonne pour visualiser le grand et le petit axe par rapport aux autres positions (figure 9B). Nous avons observé une meilleure corrélation sur le dos et debout avec cependant une sous-évaluation de la masse à l'échocardiographie par rapport à la masse pesée (figure 9A et 9C). Cette observation a déjà été faite dans des travaux antérieurs (Plehn et al., 1993). La position debout semble être la plus appropriée, on obtient la meilleure corrélation (pente de 0,93 et $r_2=0,86$) (figure 9C).

Ainsi la position la plus appropriée à notre étude est le **placement de l'animal debout**. Sur le dos, la fenêtre acoustique est bonne, mais le stress est trop intense, ce qui induit de fortes

modifications de la fonction cardiaque, non observées en positionnant l'animal sur le ventre ou debout. De plus, pour les lapins en insuffisance cardiaque, la position dorsale est cliniquement difficilement tolérée. Sur le ventre, le stress est minimum, par contre, il est difficile d'obtenir tout le temps une bonne fenêtre acoustique pour la coupe 4 cavités ce qui réduit la reproductibilité de la mesure du flux mitral et ne permet pas d'évaluation du mouvement de l'anneau mitral par DTI. De plus, dans cette position, l'alignement de l'axe du cœur pour les coupes TM est difficile, ce qui pourrait expliquer la surévaluation de la masse du VG. Le seul avantage de cette position est qu'elle permet d'obtenir facilement un flux pulmonaire. Sur le ventre, le cœur se déplaçant vers l'avant permet un meilleur accès à la paroi postérieure du cœur. Dans les études suivantes, la mesure du flux pulmonaire a donc été réalisée dans la position ventrale.

Dans la position debout, le stress est fortement atténué ; la FC, un indicateur du stress, n'est pas différente de celle observée en position ventrale, et la FRmd est comparable au groupe témoin indiquant l'absence d'ischémie sous-endocardique, l'ischémie étant en général déclenchée par le stress. Par ailleurs, aucune augmentation significative des pressions de remplissage du VG n'a été observée, les valeurs ne diffèrent pas de celles obtenues sur le ventre.

Pour finir, les fenêtres acoustiques ont été assez bonnes pour effectuer une évaluation complète de la fonction diastolique et pour obtenir une bonne corrélation entre la masse du VG mesurée par échocardiographie et la masse pesée du ventricule.

5.4 Etude de la variabilité lorsque l'échocardiographie est réalisée en position debout

Pour finir de confirmer l'intérêt de placer l'animal sur ses pattes arrière pour effectuer une bonne échocardiographie, il était nécessaire de faire une étude de reproductibilité inter-observateurs et de répétitivité intra-observateur des mesures écho-Doppler sur 10 lapins en position debout (tableau 6).

Mesures	<i>Reproductibilité inter-observateurs</i>		<i>Répétitivité intra-observateur</i>	
	Moy des différences $\pm 2SD$	% erreur	Moy des différences $\pm 2SD$	% erreur
DTD GA (mm)	0,8 \pm 2,4	6,5 \pm 4,7	0,1 \pm 1,2	2,3 \pm 2,8
DTS GA (mm)	0,2 \pm 2,4	6,2 \pm 5,3	0,3 \pm 0,8	2,8 \pm 4
DTD PA (mm)	0,3 \pm 1,2	2,7 \pm 2,3	0,3 \pm 1,6	3,4 \pm 4,1
DTS PA (mm)	- 0,7 \pm 2,1	7,3 \pm 4,5	0,1 \pm 1,6	5 \pm 4,8
PP (mm)	0,1 \pm 0,7	9,6 \pm 9,1	- 0,2 \pm 0,6	7,4 \pm 8,9
Septum (mm)	- 0,1 \pm 1,3	17,7 \pm 22,8	- 0,1 \pm 0,3	5,6 \pm 5,9
D Ao (cm)	0,0 \pm 0,04	1,6 \pm 1,4	0,0 \pm 0,04	1,6 \pm 1,3
ITV (cm)	0,5 \pm 0,6	9,9 \pm 4,8	- 0,1 \pm 0,6	2,2 \pm 3,3
E (cm/s)	3,4 \pm 7	8,3 \pm 6,7	0,5 \pm 3,6	2,5 \pm 2,4
A (cm/s)	1,5 \pm 10,2	11,4 \pm 13,5	-0,7 \pm 5,2	5,2 \pm 9,3
TDE (ms)	- 21,6 \pm 32	32,7 \pm 20,6	0,6 \pm 9,6	7,5 \pm 4,9
Dur A (ms)	- 7,3 \pm 16	11,8 \pm 10,2	-2,5 \pm 4,9	5 \pm 5,6
TRIV (ms)	1,2 \pm 14	9,2 \pm 7,1	- 0,6 \pm 5,5	3,1 \pm 3,4
S (cm/s)	4,7 \pm 14,6	12,8 \pm 12,7	0,1 \pm 4,4	3,4 \pm 3,4
D (cm/s)	5,2 \pm 11,1	15,7 \pm 15,1	0,2 \pm 3	3,1 \pm 1,4
Ar (cm/s)	2,5 \pm 11,6	27 \pm 28,2	- 0,3 \pm 8,7	10 \pm 10,4
Dur Ar (ms)	- 0,4 \pm 16,7	14,9 \pm 19,7	- 1 \pm 9,2	8,9 \pm 6,9

Tableau 6 : Les mesures de variabilité ont été calculées comme décrit par Bland et Altman (Bland et al., 1986). Les valeurs du pourcentage d'erreur sont les moyennes $\pm 2*SD$. Les unités pour les moyennes des différences correspondent au paramètre mesuré. DTD et DTS GA= diamètres télé -diastolique et -systolique en grand axe ; DTD et DTS PA= diamètres télé -diastolique et -systolique en petit axe ; PP= paroi postérieure ; E et A= vitesses des ondes mitrales précoce et atriale ; Dur A= durée du flux atrial mitral ; TDE= temps de décélération du flux mitral précoce ; TRIV= temps de relaxation isovolumique ; S, D et Ar= vitesses des flux veineux pulmonaire pendant la systole, la diastole et la contraction auriculaire ; Dur Ar= durée du flux veineux pulmonaire pendant la contraction auriculaire.

Nous observons un grand nombre de similitudes entre les 2 observateurs, à l'exception d'une plus forte variabilité pour le TDE et la durée de l'onde Ar, ces deux valeurs étant des fois plus difficiles à visualiser. Mais avec toutes les autres valeurs nous pouvons conclure à une bonne reproductibilité des examens échocardiographiques.

Par ailleurs, le pourcentage d'erreur de la comparaison intra-observateur est plus faible que celui de la comparaison inter-observateurs ; il est inférieur à 10% pour toutes les mesures. Donc nous avons une très bonne répétitivité des mesures.

5.5 Conclusion

Nous avons alors décidé de valider nos modèles de lapins 1K,1C(HVG) et 1K,1C(IC) chez l'animal conscient placé en **position debout** durant l'échocardiographie, cette position permettant d'effectuer une évaluation complète de la fonction cardiaque avec des mesures reproductibles.

Dans la partie qui suit, nous avons ainsi pu évaluer de façon complète l'état de la fonction cardiaque de ces 2 modèles en les comparant chacun avec le groupe témoin.

6 RESULTATS 4 : EVALUATION DE LA FONCTION CARDIAQUE CHEZ LES LAPINS 1K,1C PRESENTANT UNE CARDIOPATHIE HYPERTENSIVE AU STADE COMPENSE

6.1 Remodelage cardiaque

6.1.1 Evaluation par échocardiographie

Echocardiographie 2D (grand axe)	Témoin n=7	1K,1C(HVG) n=16
DTD (mm)	16,4 ± 0,2	16,5 ± 0,3
DTS (mm)	11,0 ± 0,1	11,0 ± 0,3
Septum (mm)	1,8 ± 0,1	2,7 ± 0,1 **
Paroi postérieure (mm)	1,8 ± 0,1	2,7 ± 0,1 **
Masse VG (g)	3,6 ± 0,1	6,0 ± 0,3 **
Masse VG/poids (g/kg)	1,5 ± 0,1	2,6 ± 0,1 **
Epaisseur relative des parois (%)	22 ± 0,8	33 ± 1,5

Tableau 7 : Remodelage cardiaque. Comparaison des 2 groupes par le test t non apparié de Student, *p<0,05 et **p<0,01. DTD et DTS= diamètres télé-diastolique et –systolique ; VG=ventricule gauche.

5 semaines après l'opération, le groupe 1K,1C(HVG) présente HVG significative, avec une augmentation de 67% de la masse du VG et de 73 % lorsque cette masse est rapportée au poids de l'animal, par rapport au groupe témoin (p<0,001). Cette hypertrophie s'explique par une augmentation significative des épaisseurs du septum et de la paroi postérieure (p<0,001). Les diamètres ventriculaires sont inchangés. En outre, l'augmentation de l'épaisseur relative du VG comparée au groupe témoin (p<0,001) démontre que l'hypertrophie est concentrique (tableau 7 et figure 10).

10 semaines après l'opération l'HVG est encore amplifiée et reste concentrique, l'épaisseur des parois est encore augmentée induisant une augmentation significative de l'épaisseur relative des parois (49±2,7 % vs 24±1,1 % chez les lapins 1K,1C(HVG) et les lapins témoins respectivement, p<0,001).

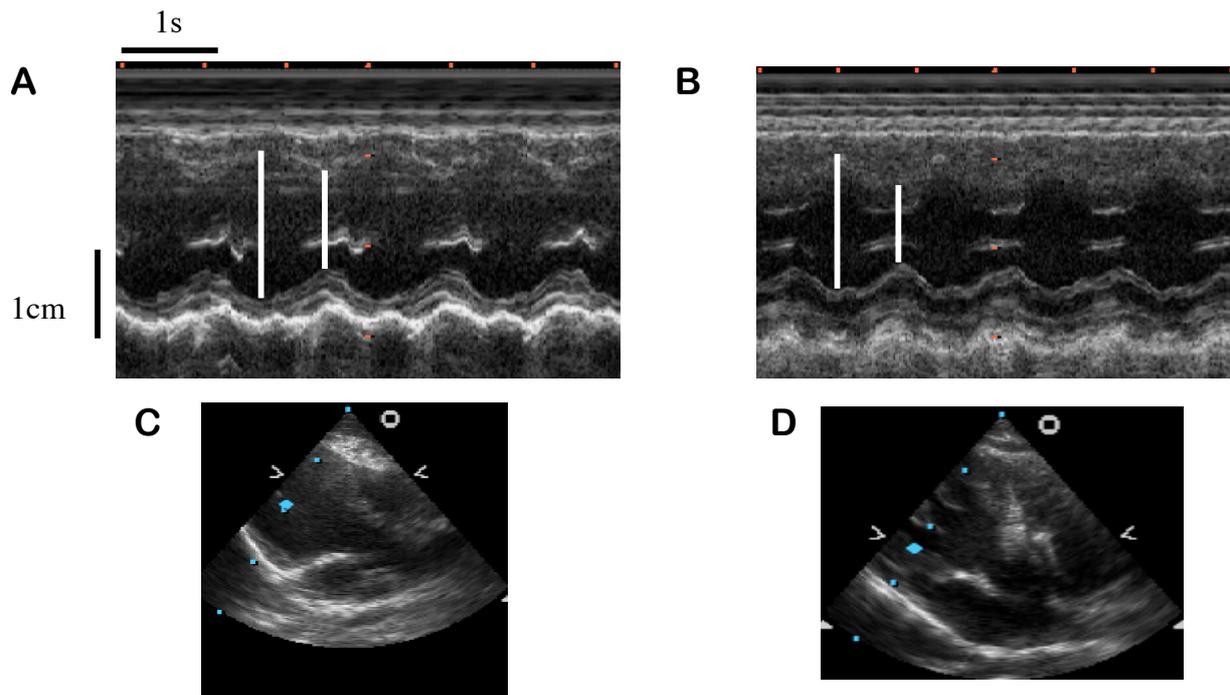


Figure 10 : Coupes TM grand axe d'un lapin témoin (A) et d'un lapin 1K,1C(HVG) (B), 5 semaines après l'opération. Coupes bidimensionnelles correspondant au coupes TM d'un lapin témoin (C) et d'un lapin 1K,1C(HVG) (D).

6.1.2 Confirmation par analyse post-mortem

<i>Organes</i>	<i>Témoin</i>	<i>1K,1C(HVG)</i>	<i>Significativité</i>
Cœur (g)	7,5±0,1	11,1±0,4	p<0,001
Cœur/poids (g/kg)	2,3±0,1	3,7±0,1	p<0,001
Ventricule gauche (g)	4,5±0,1	7,3±0,2	p<0,001
VG/poids (g/kg)	1,4±0,04	2,5±0,1	p<0,001
Ventricule droit (g)	1,2±0,05	1,5±0,1	p<0,05
Oreillettes (g)	1,7±0,2	2,0±0,1	ns

Tableau 8 : Pesée des organes après sacrifice des lapins. Comparaison des 2 groupes par le test t non apparié de Student.

Ces résultats échocardiographiques ont pu être vérifiés par l'analyse post-mortem 10 semaines après l'opération. La pesée du cœur entier, puis des ventricules et oreillettes séparément a confirmé cette hypertrophie (tableau 8). Le poids du VG est très significativement augmenté. Par ailleurs, le VD est légèrement mais significativement

augmenté et les oreillettes tendent à l'être. On peut alors penser à un début d'augmentation des pressions de remplissage du VG.

L'hypertrophie ventriculaire gauche serait expliquée par l'augmentation de la taille des cardiomyocytes mesurée à partir de coupes histologiques colorées avec l'Hématoxyline-Eosine (figure 11).

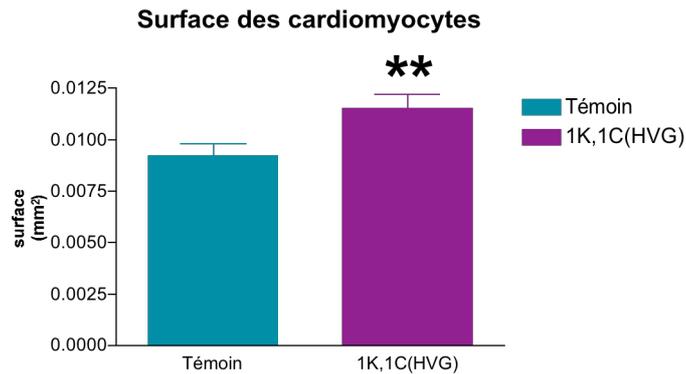


Figure 11 : Surface des cardiomyocytes 10 semaines post-opératoire. Comparaison des groupes témoin et 1K,1C(HVG) par le test de Student ** $p < 0,001$.

Par contre, à ce stade de la pathologie, la densité de collagène observé par la densité de bleu (coloration du collagène par le trichrome de Masson) ne semble pas être augmentée (figure 12). Donc l'HVG ne serait pas expliquée par une fibrose interstitielle.

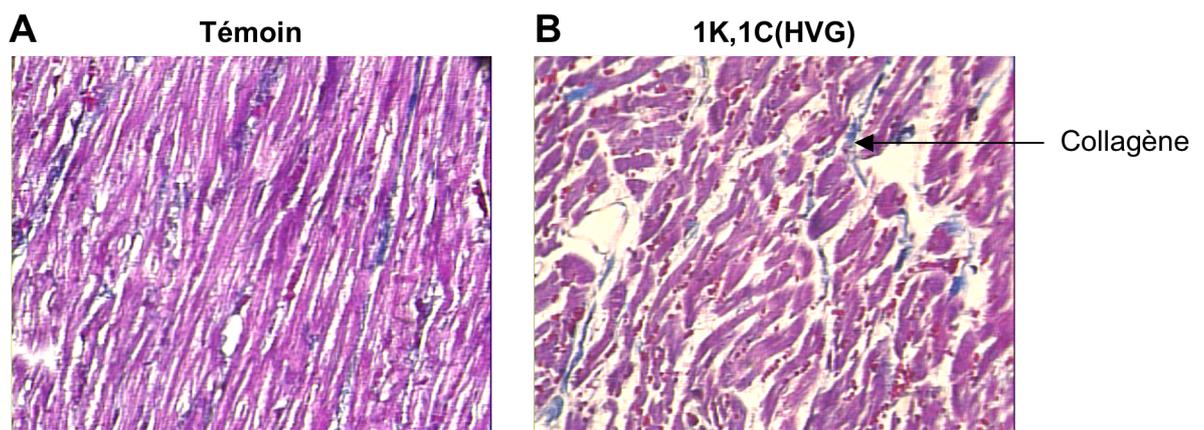


Figure 12 : Coupes histologiques de ventricule gauche colorées au trichrome de Masson d'un lapin témoin (A) et d'un lapin 1K,1C (HVG) (B) à 10 semaines post-opératoire. (grossissement x16).

6.2 Fonction systolique

6.2.1 Evaluation par échocardiographie

Echocardiographie 2D (grand axe)	Témoin n=7	1K,1C(HVG) n=16
FR (%)	33 ± 0,9	33 ± 0,9
Fraction d'éjection (%)	65 ± 2,0	65 ± 1,3
FR mi-paroi (%)	23 ± 0,8	22 ± 0,9
Fréquence cardiaque (bpm)	193 ± 13	211 ± 5
Débit cardiaque (ml/min)	812 ± 67	849 ± 40

Tableau 9 : Evaluation de la fonction systolique. FR=Fraction de raccourcissement.

Une évaluation complète de la fonction systolique nécessite une analyse de la contractilité du VG au niveau endocardique (FR et FE) et à mi-paroi (FRmd). Lors d'un stress relativement faible, la fonction systolique semble préservée, elle est équivalente à celle du groupe témoin. En effet, les FR et FE au sont inchangées comparées à celles du groupe témoin. De même, le débit cardiaque n'est pas modifié (tableau 9). Cependant, la fonction systolique semble tout de même présenter des altérations. Nous avons montré dans la partie précédente qu'en mettant le lapin 1K,1C(HVG) dans une position stressante, la FRmd est réduite (tableau 4).

Ainsi, notre modèle d'HTA associée à une HVG présente les mêmes caractéristiques que celles observés chez les patients hypertendus (décrites dans l'introduction) : une fonction systolique préservée avec cependant la présence d'une baisse du flux coronaire qui serait révélée par un stress ou un effort, et pouvant induire des risques d'ischémie myocardique.

10 semaines après l'opération, la fonction systolique au repos est toujours préservée, la FE est égale à 67 % et 70 % chez les lapins témoins et 1K,1C(HVG), respectivement.

6.2.2 Evaluation par cathétérisme ventriculaire gauche

L'absence d'altération de la fonction systolique au repos est confirmée par l'absence de différence de la valeur maximale de la dérivée première de la pression ventriculaire en fonction du temps (dP/dtmax) entre les 2 groupes de lapins : 3421±498 vs 3543±534 mmHg/s dans les groupes témoin et 1K,1C(HVG), respectivement.

6.3 Fonction diastolique

6.3.1 Evaluation par échocardiographie

Paramètres	Témoin n=7	1K,1C(HVG) n=16
(b) <u>Flux mitral</u>		
Vitesse onde E (cm/s)	53,4 ± 2,2	47,8 ± 2,2
Vitesse onde A (cm/s)	44,5 ± 3,0	56 ± 2,4 **
E/A	1,2 ± 0,1	0,9 ± 0,04 **
TDE (ms)	41 ± 3,0	49 ± 2,1
Durée de A (ms)	51 ± 2,4	45 ± 2,2
TRIV (ms)	44 ± 2,3	56 ± 1,8 **
<u>Flux veineux pulmonaire</u>		
Vitesse onde S (cm/s)	37,8 ± 2,7	44,9 ± 1,7
Vitesse onde D (cm/s)	45,5 ± 4,0	36,4 ± 1,3 *
S/D ratio	0,8 ± 0,04	1,3 ± 0,1 **
Vitesse onde Ar (cm/s)	14,7 ± 0,9	18,4 ± 0,8 **
Durée de Ar (ms)	39 ± 2,2	44 ± 1,2 *
Durée (Ar-A) (ms)	-12,7 ± 3,1	-5,3 ± 1,6 *
<u>Vitesse de l'anneau mitral (lateral)</u>		
Vitesse onde Ea (cm/s)	7,0 ± 0,2	5,5 ± 0,4 *
Vitesse onde Aa (cm/s)	5,3 ± 0,2	6,0 ± 0,3
Vitesse onde Sa (cm/s)	7,1 ± 0,2	7,1 ± 0,3
Ea/Aa	1,3 ± 0,03	0,9 ± 0,1 *
E/Ea	7,7 ± 0,4	9,1 ± 0,7
<u>Vitesse de l'anneau mitral (septal)</u>		
Vitesse onde Ea (cm/s)	6,2 ± 0,4	4,8 ± 0,2 *
Vitesse onde Aa (cm/s)	5,0 ± 0,3	4,9 ± 0,2
Vitesse onde Sa (cm/s)	6,4 ± 0,3	5,7 ± 0,3
Ea/Aa	1,3 ± 0,1	1,0 ± 0,1 *
E/Ea	8,7 ± 0,5	10,5 ± 0,8

Tableau 10 : Evaluation de la fonction diastolique. Comparaison des 2 groupes par le test t non apparié de Student, *p<0,05 et **p<0,01.

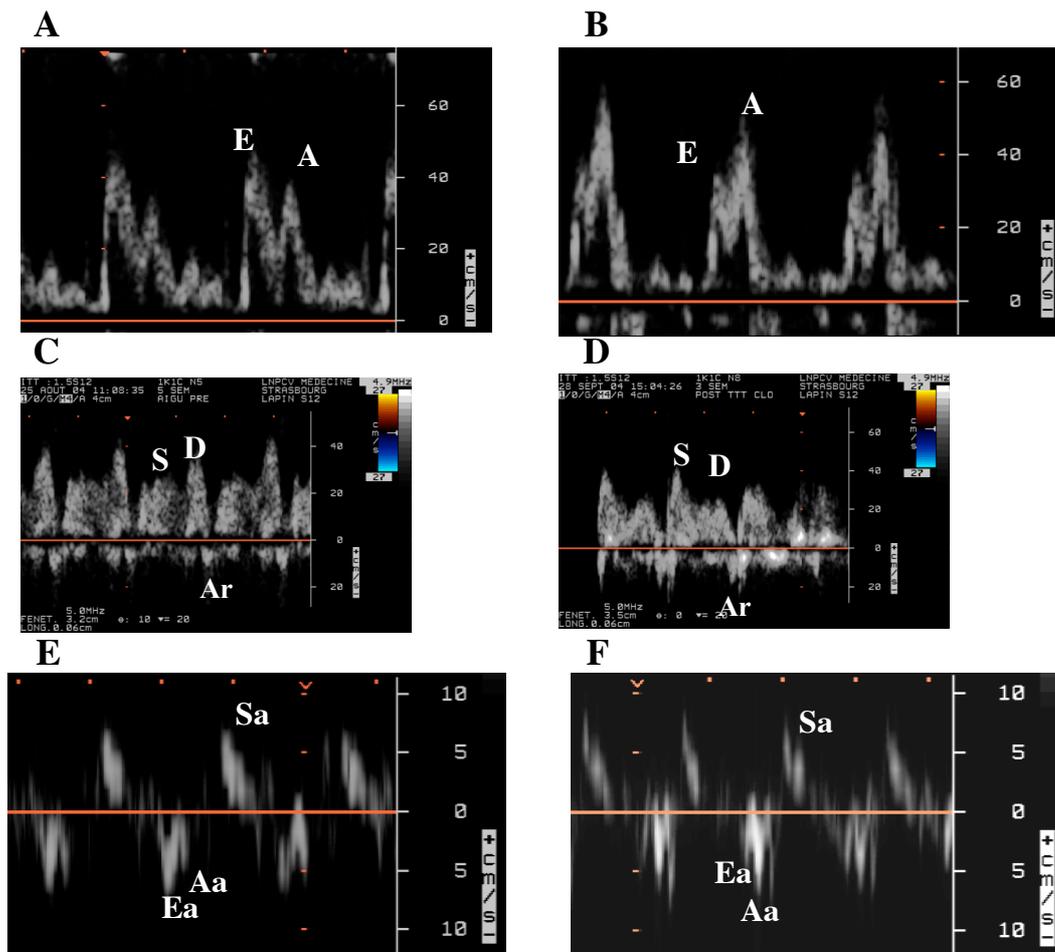


Figure 13 : Flux mitral de lapins témoin (A) et 1K,1C(HVG) (B), flux pulmonaire de lapins témoins (C) et 1K,1C(HVG) (D) et DTI de lapins témoin (E) et 1K,1C(HVG) (F), 5 semaines après l’opération.

Une évaluation complète de la fonction diastolique est effectuée par l’analyse du flux mitral, du flux pulmonaire et du mouvement de l’anneau mitral (DTI) (tableau 10).

Avec l’analyse du flux mitral, réalisée 5 semaines après l’opération, nous observons une inversion du rapport E/A. Cette inversion est principalement due à une augmentation significative de l’onde A, la baisse de l’onde E n’étant pas significative. De plus, le TRIV est significativement augmenté. Il y a donc présence d’un trouble primaire de relaxation du VG (figure 13A et 13B). Cette dysfonction est confirmée par le flux pulmonaire. En effet, la réduction significative de l’onde D révèle un trouble primaire de relaxation et la légère augmentation de l’onde S irait dans le sens d’une augmentation de contractilité du ventricule gauche due à l’hypertrophie (figures 13C et 13D). Dans le groupe 1K,1C(HVG), nous observons déjà une légère augmentation des pressions de remplissage : la différence entre les durées de l’onde Ar et de l’onde A est significativement différente de celle observée chez les

lapin témoins, elle se rapproche de 0, tout en restant inférieure à ce chiffre. De plus nous observons une légère augmentation des indices combinés E/Ea en latéral et en septal. Le DTI confirme également le trouble de relaxation par une inversion du rapport Ea/Aa (figures 13E et 13F).

10 semaines après l'opération, les animaux hypertendus présentent toujours une dysfonction diastolique de stade I. Les rapports E/A et Ea/Aa (du côté septal) sont inférieurs à 1 ($0,8\pm 0,05$ et $0,9\pm 0,1$ pour le groupe 1K,1C(HVG) et $1,1\pm 0,1$ et $1,2\pm 0,1$ pour le groupe témoin respectivement, $p<0,05$) ; de plus, le TRIV est encore significativement augmenté dans le groupe 1K,1C(HVG) ($53\pm 3,8$ ms vs $43\pm 1,1$ ms, $p<0,05$). Une augmentation significative de différence entre les durées de l'onde Ar et de l'onde A laisse aussi présager une augmentation des pressions de remplissage, cependant la valeur reste encore inférieure à 0 ; de plus, le rapport E/Ea n'est pas augmenté.

6.3.2 Evaluation par cathétérisme ventriculaire gauche

10 semaines après l'opération, le trouble de relaxation est confirmé par la corrélation positive existant entre le TRIV et l'indice de tau (figure 14).

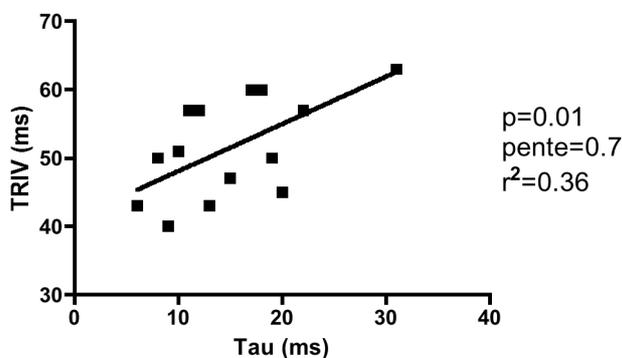


Figure 14 : Courbe de corrélation entre le temps de relaxation isovolumique (TRIV) et l'indice de tau.

Par la mesure directe de la pression ventriculaire gauche en fin de diastole, nous n'avons par contre pas observé d'augmentation des pressions de remplissage. Elle n'est pas modifiée comparée au groupe témoin : 11 ± 2 mmHg et 10 ± 3 mmHg dans les groupes témoin et 1K,1C(HVG), respectivement. Ces résultats coïncident avec l'étude post-mortem, ne montrant aucune fibrose interstitielle, donc pas de perte de compliance apparente. On peut penser que la légère augmentation observée par échocardiographie serait due à la présence du trouble de relaxation.

6.4 Fonction vasculaire

Comme cela a été décrit dans des études précédentes, l'hypertension artérielle observée est associée à une augmentation des résistances vasculaires périphériques, due à l'augmentation du volume plasmatique (Ferrario, 1974; Ledingham, 1991) (figure 15).

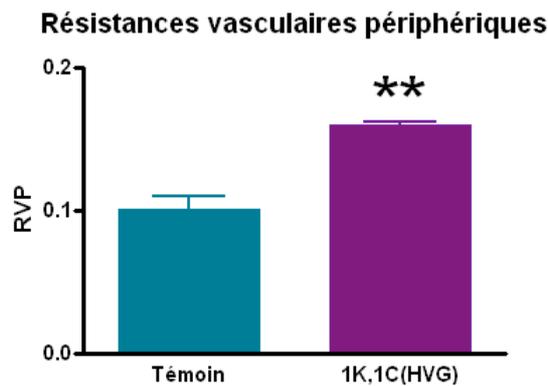


Figure 15 : Comparaison des résistances vasculaires périphériques entre les groupes de lapins témoin et 1K,1C(HVG), 5 semaines après l'opération. **p<0,001.

De plus, la pression pulsée, un paramètre utilisé comme une mesure approximative de la rigidité artérielle (Stergiopoulos et al., 1994), est significativement augmentée : de 20 ± 1 à 25 ± 1 mmHg chez les lapins témoins et les lapins 1K,1C(HVG), respectivement ($p < 0,05$). Les animaux hypertendus présentent donc une augmentation de la rigidité artérielle, cette caractéristique ayant déjà été décrite chez des patients hypertendus (Gatzka and Kingwell, 2003). Une altération de la compliance artérielle contribuerait au développement de la dysfonction diastolique chez les patients hypertendus (Mottram et al., 2005). En effet, une augmentation de la rigidité vasculaire amplifie la postcharge, qui est déjà augmentée par l'hypertension, aggravant alors l'HVG et altérant donc la relaxation ventriculaire.

Nous n'avons pas réalisé d'étude histologique à partir de vaisseaux périphériques, cependant nous observons une augmentation de l'épaisseur de la paroi musculaire des vaisseaux dans le VG, chez les lapins hypertendus (figure 16). Cette hypertrophie vasculaire pourrait expliquer l'augmentation de la rigidité des vaisseaux et aussi nos hypothèses sur les risques d'hypoperfusion sous-endocardique, et donc d'ischémie que nous avons observés lors d'un

stress (paragraphe 5.1). Une hypertrophie des parois des artérioles intramyocardiques, très important au niveau sous-endocardique, induit une augmentation de la résistance coronaire et donc une réduction de la réserve coronaire (Schwartzkopff et al., 1995; Schwartzkopff et al., 1998). Ainsi, lors d'un stress ou d'un effort physique, une perfusion sous-endocardique insuffisante engendrerait des ischémies.

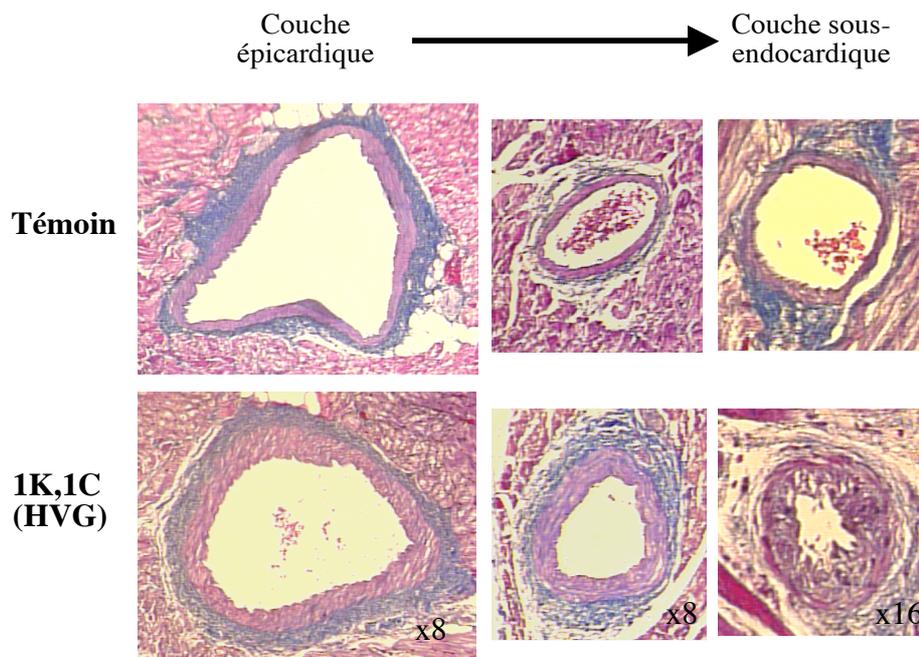


Figure 16 : Coupes histologiques de vaisseaux, allant de la couche la plus épiscopardique à la plus endocardique du VG, chez des lapins témoins et 1K,1C(HVG) (coloration au trichrome de Masson).

7 RESULTATS 4 : EVALUATION DE LA FONCTION CARDIAQUE CHEZ LES LAPINS INSUFFISANTS CARDIAQUES

Afin d'évaluer le temps d'apparition de l'insuffisance cardiaque observée chez ces lapins, nous avons observé, sur un groupe de 18 lapins opérés parmi tous les autres, l'évolution de la fonction cardiaque par des échocardiographies effectuées à 15 (J15), 22 (J22) et 30 jours (J30) puis 5 semaines après l'opération. Nous avons ainsi cherché à déterminer le délai d'apparition de l'insuffisance cardiaque. Sur les 18 lapins, 8 développent une insuffisance cardiaque. La décompensation survient toujours durant les 5 premières semaines suivant l'opération ; après 5 semaines, la pathologie est bien installée. Par contre, le déclenchement de la pathologie est survenu pour 3 lapins à J15, 2 lapins à J22 et 3 lapins à J30. Le développement de l'IC ne semble donc pas prédictible ; une cause possible de la survenue de l'IC plutôt que l'HTA sera développée dans la discussion générale.

7.1 Symptômes cliniques

Dès la 5^{ème} semaine, voire même avant, le lapin présente des symptômes caractéristiques d'insuffisance cardiaque, très proches de ceux observés chez l'Homme. Nous observons :

- une importante tachycardie observée par échocardiographie (261 ± 10 vs 193 ± 13 bpm, comparé au groupe témoin, $p < 0,001$),
- une dyspnée et une baisse d'activité correspondant aux stades III ou IV du classement NYHA suivant la sévérité de l'insuffisance,
- la possibilité d'entendre des râles crépitants dans les cas les plus sévères, par auscultation pulmonaire,
- un épanchement péricardique,
- une ascite,
- un amaigrissement. Cependant, cette perte de poids n'est pas fortement remarquée du fait de la rétention d'eau.

7.2 Remodelage cardiaque

7.2.1 Evaluation par échocardiographie

Echocardiographie 2D (grand axe)	Témoin n=7	1K,1C(IC) n=10
DTD (mm)	16,4 ± 0,2	22,4 ± 0,9 **
DTS (mm)	11,0 ± 0,1	20,1 ± 0,9 **
Septum (mm)	1,8 ± 0,1	1,9 ± 0,1
Paroi postérieure (mm)	1,8 ± 0,1	1,9 ± 0,2
Masse VG (g)	3,6 ± 0,1	6,9 ± 0,3 **
Masse VG/poids (g/kg)	1,5 ± 0,1	3,4 ± 0,1 **
Epaisseur relative des parois (%)	23 ± 0,8	17 ± 1,7 **

Tableau 11 : Remodelage cardiaque. Comparaison des 2 groupes par le test t non apparié de Student, *p<0,05 et **p<0,01.

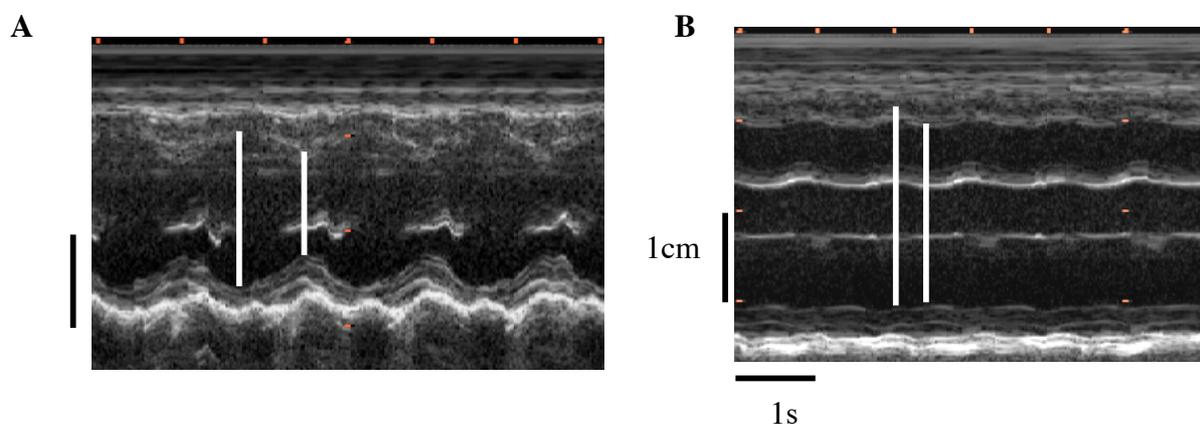


Figure 17 : Coupes TM grand axe d'un lapin témoin (A) et d'un lapin 1K,1C(IC) (B), 5 semaines après l'opération.

Les lapins 1K,1C(IC) présentent un remodelage complet, le cœur est totalement arrondi avec une dilatation ventriculaire gauche significative : les diamètres télé-diastolique et -systolique augmentent de 37 % et 82 % respectivement comparés au groupe témoin. L'épaisseurs des parois ne sont pas significativement différentes du groupe témoin et l'épaisseur relative est significativement plus basse. Mais nous observons une forte augmentation de la masse

ventriculaire gauche, de 92 % et de 126 % lorsque ce paramètre est rapporté au poids de l'animal. Ces animaux développent donc une **hypertrophie ventriculaire excentrique** (tableau 11 et figure 17).

7.2.2 Confirmation par étude post-mortem

Nous avons eu confirmation de l'hypertrophie par la présence d'une augmentation significative du poids du cœur et de ses différentes structures comparés au groupe témoin (tableau 12).

<i>Organes</i>	<i>Témoin</i>	<i>1K,1C(IC)</i>	<i>Student</i>
Cœur (g)	7,5 ± 0,1	13,1 ± 0,6	P<0,001
Cœur/poids (g/kg)	3,1 ± 0,1	6,1 ± 0,4	P<0,001
Ventricule gauche (g)	4,5 ± 0,1	7,4 ± 0,3	P<0,001
VG/poids (g/kg)	1,4 ± 0,04	3,6 ± 0,2	P<0,001
Ventricule droit (g)	1,2 ± 0,05	2,1 ± 0,1	P<0,001
Oreillettes (g)	1,7 ± 0,2	3,5 ± 0,3	P<0,001

Tableau 12 : Pesée des organes après le sacrifice. Comparaison par le test t de Student.

Le diamètre des cardiomyocytes est augmenté comparé à celui du groupe témoin à 5 semaines (p=0,03, figure 18), mais la différence entre les deux groupes est moindre comparée celle qui a été observée entre les groupes témoins et 1K,1C(HVG) à 11 semaines. Cela s'explique par le fait que ce modèle développe une hypertrophie excentrique. En effet, dans ce type de remodelage, les cardiomyocytes sont étirés donc le diamètre est beaucoup moins agrandi, l'hypertrophie des cellules se fait donc principalement dans la longueur, par allongement longitudinal des sarcomères.

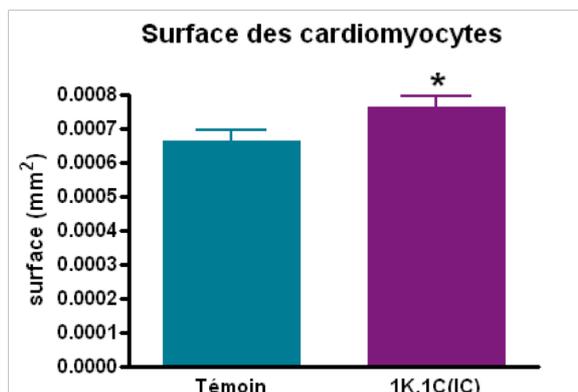


Figure 18 : Comparaison de la surface des cardiomyocytes des lapins témoins avec celle des lapins 1K,1C(IC), 5 semaines après l'opération. *p<0,05, par le test t de student

Tout comme pour le groupe 1K,1C(HVG), cette hypertrophie n'est pas associée à une fibrose interstitielle (figure 19). A ce stade de la pathologie, il serait au contraire possible que collagène soit dégradé par une synthèse accrue de métalloprotéases.

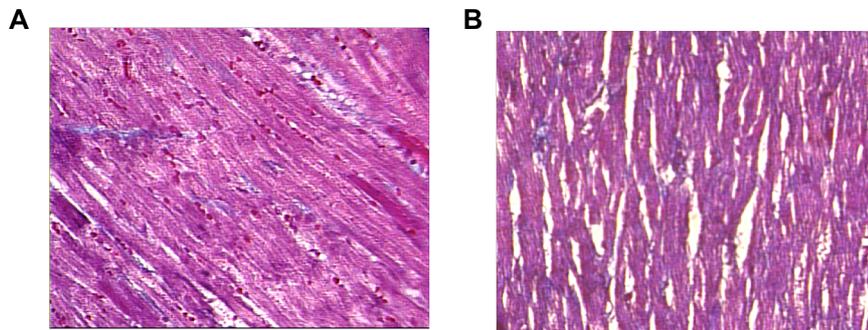


Figure 18 : Coupes histologiques de ventricule gauche colorées au trichrome de Masson d'un lapin témoin (A) et d'un lapin 1K,1C(IC) (B) 5 semaines après l'opération (x16).

De plus, l'augmentation du poids du ventricule droit et des oreillettes met en évidence une congestion pulmonaire. Ceci confirme la présence d'une hypertension pulmonaire caractérisée par l'œdème pulmonaire que nous avons décrit précédemment.

7.3 Fonction systolique

Echocardiographie 2D (grand axe)	Témoin n=7	1K,1C(IC) n=10
FR (%)	33 ± 0,9	10 ± 1,0 **
FE (%)	65 ± 2,0	24 ± 2,4 **
FR mi-paroi (%)	23 ± 0,8	7 ± 0,8 **
Fréquence cardiaque (bpm)	193 ± 13	256 ± 8 **
Débit cardiaque (ml/min)	812 ± 67	382 ± 69 **

Tableau 13 : Evaluation de la fonction systolique. Comparaison des 2 groupes par le test t non apparié de Student, **p<0,01.

La dilatation ventriculaire est accompagnée d'une très forte réduction de la fraction d'éjection - paramètre qui est cependant à limiter du fait de la forme arrondie du cœur - mais également d'une réduction de 70 % des fractions de raccourcissement (FR et FRmd). Cette réduction de contractilité, malgré la tachycardie, induit une réduction de 53 % du débit cardiaque (tableau 13).

7.4 Fonction diastolique

7.4.1 Evaluation par échocardiographie

Paramètres	Témoin n=7	1K,1C(IC) n=10
(c) <u>Flux mitral</u>		
Vitesse onde E (cm/s)	53,4 ± 2,2	69,8 ± 3,4 **
Vitesse onde A (cm/s)	44,5 ± 3,0	22,2 ± 3,4 **
E/A	1,2 ± 0,1	4,7 ± 1,3 *
TDE (ms)	41 ± 3,0	29 ± 1,5 *
Durée de A (ms)	51 ± 2,4	31 ± 3,5 **
TRIV (ms)	44 ± 2,3	49 ± 2,0
<u>Flux veineux pulmonaire</u>		
Vitesse onde S (cm/s)	37,8 ± 2,7	28,2 ± 4,4
Vitesse onde D (cm/s)	45,5 ± 4,0	39,0 ± 3,8
S/D	0,8 ± 0,04	0,7 ± 0,1
Vitesse onde Ar (cm/s)	14,7 ± 0,9	20,9 ± 1,5 *
Durée de Ar (ms)	39 ± 2,2	50 ± 2,3 **
Durée (Ar-A) (ms)	-12,7 ± 3,1	19,7 ± 3,4 **
<u>Vitesse de l'anneau mitral (latéral)</u>		
Vitesse onde Ea (cm/s)	7 ± 0,2	4,2 ± 0,6 **
Vitesse onde Aa (cm/s)	5,3 ± 0,2	4,2 ± 0,3 *
Vitesse onde Sa (cm/s)	7,1 ± 0,2	4,7 ± 0,4 **
Ea/Aa	1,3 ± 0,03	1,0 ± 0,2
E/Ea	7,7 ± 0,4	18,4 ± 2,0 **
<u>Vitesse de l'anneau mitral (septal)</u>		
Vitesse onde Ea (cm/s)	6,2 ± 0,4	3,5 ± 0,4 **
Vitesse onde Aa (cm/s)	5,0 ± 0,3	4,0 ± 0,3
Vitesse onde Sa (cm/s)	6,4 ± 0,3	4,2 ± 0,3 **
Ea/Aa	1,3 ± 0,1	0,9 ± 0,2 *
E/Ea	8,7 ± 0,5	19,6 ± 2,2 **

Tableau 14 : Evaluation de la fonction diastolique. Comparaison des 2 groupes par le test t non apparié de Student, * $p < 0,05$ et ** $p < 0,01$.

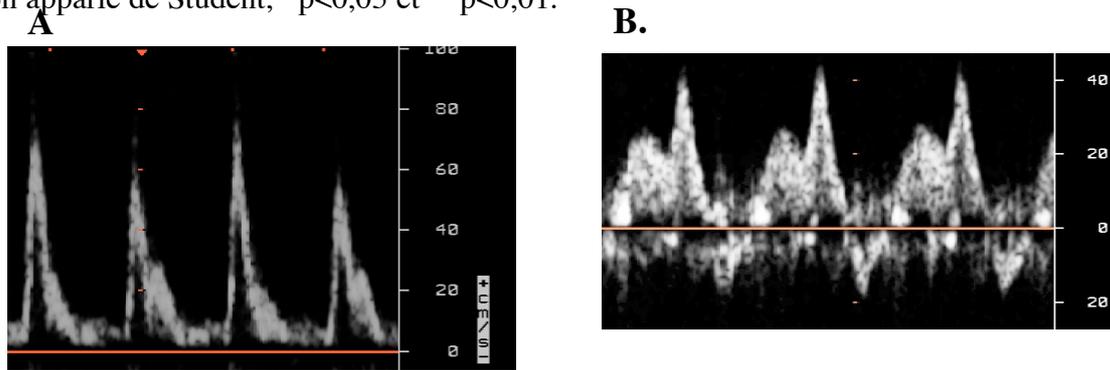


Figure 20 : Flux mitral (A) et flux pulmonaire (B) d'un lapin 1K,1C(IC).

L'augmentation importante de 31 % de la vitesse de l'onde E et la diminution significative de 50 % de la vitesse de l'onde A se traduit par une augmentation significative du rapport E/A. De plus, le temps de décélération de l'onde E est réduit, ce qui démontre un profil restrictif du flux mitral. Ce profil est dû à une augmentation des pressions de remplissage du VG, ce qui est démontré par une augmentation significative de différents indices combinés tels que la différence entre les durées de Ar et A et le rapport E/Ea. De plus, la diminution importante de la vitesse de l'onde S confirme la baisse de contractilité du VG (tableau 14 et figure 20).

7.4.2 Confirmation par l'analyse post-mortem

Après le sacrifice, le diagnostic d'une insuffisance cardiaque congestive a pu être confirmé : La masse des poumons est significativement augmentée ($11,9 \pm 0,5$ vs $9,6 \pm 0,2$ g par rapport au groupe témoin, $p < 0,001$) et également lorsqu'elle est rapportée au poids corporel ($5,5 \pm 0,2$ vs $3 \pm 0,1$ g/kg, $p < 0,001$). De plus, les poumons prennent un aspect congestionné. Cela démontre la présence d'un œdème pulmonaire.

Nous observons également une congestion du foie, et nous avons une confirmation de la présence de l'ascite et de l'épanchement péricardique.

8 CONCLUSION

Nous avons développé un modèle de cardiopathie hypertensive d'origine rénovasculaire, donc due à une insuffisance rénale. Ce type d'hypertension est également observé chez l'Homme dans des cas de sténose artérielle rénale par exemple (**origine de l'HTA similaire à celle de l'Homme**).

Malgré une **standardisation** de la sténose grâce à l'échographie rénale, l'opération que nous avons réalisée peut évoluer vers 2 types de dysfonctions cardiaques ; aucune autre étude réalisée sur ce modèle n'avait encore décrit ce phénomène. Par contre, ce type d'évolution a déjà été observée dans différents cas cliniques et précliniques de sténose aortique (Carabello, 2002; Norton et al., 2002). Nous nous intéresserons plus amplement à ce problème dans la discussion générale.

En outre, dans notre modèle, le développement de la cardiopathie est **contrôlable** grâce à l'échocardiographie.

Nous avons donc pu mettre en place un modèle expérimental de cardiopathie hypertensive évoluant vers deux stades différents de la cardiopathie : un certain nombre d'animaux montrant un stade primaire de l'HTA et les autres présentant directement un stade terminal de la cardiopathie. Les dysfonctions ventriculaires gauches observées présentent des **caractéristiques très similaires à celles observées chez l'Homme** dans l'hypertension artérielle et l'insuffisance cardiaque congestive (Aronow, 2006; Mitchell et al., 2005; Mottram and Marwick, 2005). Ces modèles développent rapidement la pathologie, particulièrement l'ICC. Il faut préciser que chez le patient hypertendu, la pathologie hypertensive reste stable durant un certain nombre d'années avant d'évoluer vers une décompensation cardiaque.

- **Les lapins 1K,1C(HVG)** présentent une hypertension artérielle, induisant une augmentation de la postcharge. L'hypertension est accompagnée d'une hypertrophie concentrique, d'une dysfonction diastolique, caractérisée par un trouble primaire de relaxation avec une très légère augmentation des pressions de remplissage, et d'une augmentation significative des résistances vasculaires périphériques. A ce stade, ces

animaux ne présentent pas de dysfonction systolique apparente, sauf en cas de stress, comme observé chez l'Homme. Nous avons donc un modèle présentant une pathologie au stade A de l'insuffisance cardiaque chronique.

En transposant ces résultats sur une courbe pression/volume, nous pouvons dire que l'augmentation de la postcharge induit une augmentation des pressions et pour conserver un volume d'éjection normal, la droite d'inotropisme est déplacée vers la gauche, reflétant une augmentation de contractilité due au développement d'une HVG. A ce stade, la compliance n'est pas encore significativement altérée (figure 21).

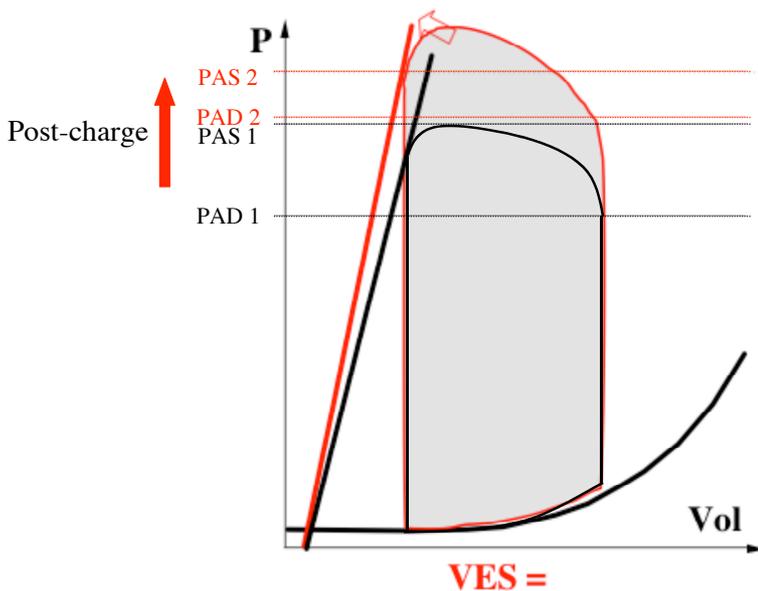


Figure 21 : Courbe pression/volume théorique d'un lapin développant une HTA. VES=volume d'éjection systolique.

- **Les lapins 1K,1C(IC)** présentent une insuffisance cardiaque se rapprochant des stades III ou IV de la classification NYHA. Cette insuffisance est caractérisée par une hypertrophie excentrique, une dysfonction systolique sévère et une dysfonction diastolique avec un profil restrictif du flux mitral associé à une augmentation des pressions de remplissage. A cela s'ajoute une augmentation des pressions pulmonaires induisant un œdème pulmonaire, et une ascite secondaire à la rétention hydrosodée.

En transposant ces résultats sur une courbe pression/volume, nous pouvons dire que l'augmentation des pressions pulmonaires est responsable d'une augmentation de la précharge, qui induit une augmentation des pressions de remplissage du VG. De plus la contractilité est réduite avec une dilatation du VG, la droite d'inotropisme est déplacée vers la droite. Il y a donc une IC mixte (figure 22).

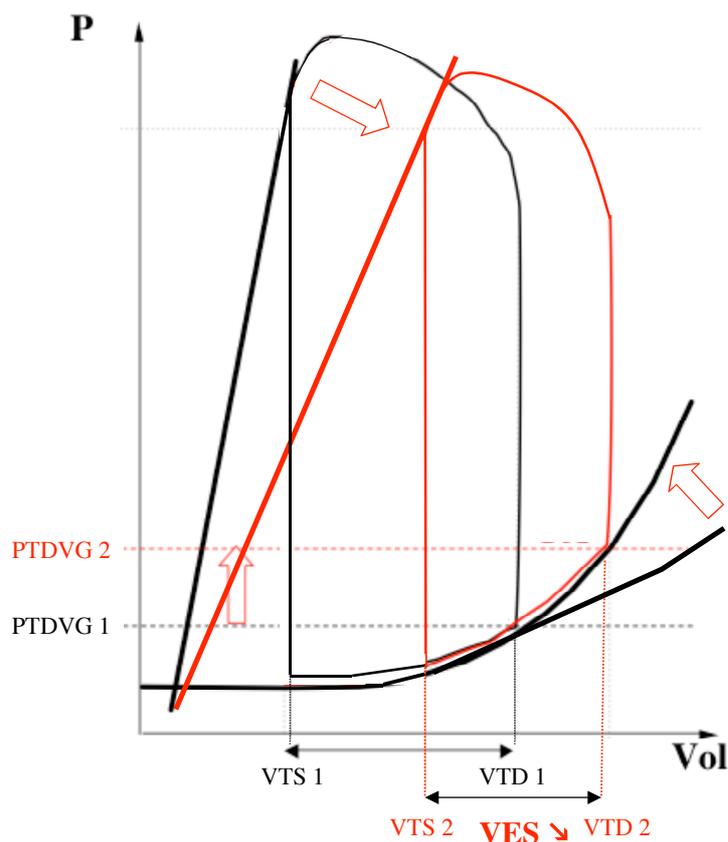


Figure 22 : Courbe pression/volume théorique d'un lapin développant une ICC.
VES=volume d'éjection systolique.

Afin de valider l'évaluation échocardiographique de notre modèle, nous avons comparé nos valeurs chez des lapins normotendus avec celles obtenues dans d'autres études. La plupart des études ont été réalisées chez l'animal anesthésié (Nagueh et al., 2000; Pennock et al., 1997). Chez un animal conscient, la majorité des études ont évalué quelques paramètres de la fonction systolique (Moran et al., 2003; Plehn et al., 1993), ce n'est que très récemment, qu'une équipe a mesuré différents paramètres de la fonction diastolique chez le lapin éveillé et sain (Stypmann et al., 2007). Les études chez le lapin hypertendu sont très rares, elles n'évaluent que la fonction systolique et seule une étude l'a effectuée chez l'animal éveillé; de plus, le poids et la fréquence cardiaque diffèrent des valeurs de nos lapins (Cuniberti et al., 2006; Moran et al., 2003; Plehn et al., 1993).

Ainsi, en comparant nos résultats chez le lapin témoin à ceux de Stypmann et al., de Pennock et al. et de Nagueh et al., nous avons observé que, globalement, les différents paramètres coïncident (tableau 15). En comparant avec les valeurs dans l'étude de Nagueh et al., nous observons tout de même une importante différence dans les durées des paramètres, mais cela pourrait être expliqué par la forte bradycardie induite par l'anesthésie lors de cette étude.

Nous pouvons alors dire que notre technique de mesure est fiable.

Paramètres	Conscients		Anesthésiés	
	Nos témoins moy \pm SEM	Stypmann J moy \pm SD	Pennock GD moy \pm SD	Nagueh SF moy \pm SD
FC (bpm)	193 \pm 13	234 \pm 26		148 \pm 25
DTD (mm)	16,4 \pm 0,2	15,4 \pm 1,1	15,3 \pm 1,3	14,1 \pm 0,19
DTS (mm)	11,0 \pm 0,1	10,1 \pm 0,1	10,9 \pm 0,8	8,8 \pm 0,16
FE (%)	65 \pm 2,0		62 \pm 6,0	
FR (%)	33 \pm 0,9	35 \pm 4,9	29 \pm 4,0	38 \pm 7,6
FRmd (%)	23 \pm 0,8		25 \pm 9,0	
Septum (mm)	1,8 \pm 0,1			2,0 \pm 0,30
PP (mm)	1,8 \pm 0,1			2,2 \pm 0,23
E (cm/s)	53,4 \pm 2,2	71,5 \pm 13,8	52 \pm 5,0	48 \pm 6,7
A (cm/s)	44,5 \pm 3,0	51,4 \pm 14,5	41 \pm 8	25,6 \pm 6,0
E/A	1,2 \pm 0,1	1,4 \pm 0,3		1,8 \pm 0,3
TDE (ms)	41 \pm 3,0		45 \pm 16	87 \pm 20
Durée de A (ms)	51 \pm 2,4		53 \pm 17	64 \pm 14
TRIV (ms)	44 \pm 2,3	38 \pm 5	43 \pm 8	40 \pm 6,0
S (cm/s)	37,8 \pm 2,7		30 \pm 5	23 \pm 8,0
D (cm/s)	45,5 \pm 4,0		36 \pm 7	39 \pm 9,0
Ar (cm/s)	14,7 \pm 0,9		18 \pm 9	13 \pm 3
Dur Ar (ms)	39 \pm 2,2			58 \pm 10
Durée (Ar-A) (ms)	-12,7 \pm 3,1			-6,3 \pm 10,5
Ea (cm/s) (latéral)	7,0 \pm 0,2	6,7 \pm 1,9		10,2 \pm 1,7
Aa (cm/s) (latéral)	5,3 \pm 0,2	3,9 \pm 0,7		4,0 \pm 1,3
Sa (cm/s) (latéral)	7,1 \pm 0,2	5,5 \pm 1,3		10,8 \pm 2,3
Ea/Aa (latéral)	1,3 \pm 0,03			2,2 \pm 0,3
E/Ea (latéral)	7,7 \pm 0,4			4,7 \pm 0,7
Ea (cm/s) (septal)	6,2 \pm 0,4	5,0 \pm 1,7		8,0 \pm 1,5
Aa (cm/s) (septal)	5,0 \pm 0,3	3,2 \pm 0,9		3,3 \pm 0,4
Sa (cm/s) (septal)	6,4 \pm 0,3	5,3 \pm 1		8,0 \pm 2,0
Ea/Aa (septal)	1,3 \pm 0,1			2,1 \pm 0,6
E/Ea (septal)	8,7 \pm 0,5			6,1 \pm 0,8

Tableau 15 : Comparaison de divers paramètres échocardiographiques de nos lapins témoins (dans un état éveillé) avec ceux des lapins obtenus dans trois autres études.

Donc, l'espèce que nous avons choisie, le lapin, est **totale**ment adaptée à la poursuite de nos travaux. Chez l'animal conscient, nous pouvons réaliser une échocardiographie complète et mesurer la pression artérielle de façon **chronique**.

Nous avons un modèle expérimental rassemblant un certain nombre de caractéristiques nécessaires pour être un modèle adapté à nos études. Nous avons ainsi pu étudier, dans deux types de dysfonctions ventriculaires gauches, les différents effets cardiaques d'inhibiteurs sympathiques, ceci à la fois en aigu et en chronique.

CHAPITRE 2

ETUDE EN AIGU CHEZ LES LAPINS HYPERTENDUS

1. INTRODUCTION

Après avoir mis au point et standardisé notre modèle d'hypertension artérielle chez le lapin, nous avons cherché à caractériser les effets hémodynamiques, ainsi que les mécanismes d'action d'inhibiteurs sympathiques d'action centrale. Les 2 chapitres qui suivent portent sur nos études réalisées dans le modèle de lapins hypertendus 1K,1C(HVG).

Les effets d'antihypertenseurs, tels que les bloqueurs des récepteurs β -adrénergiques (pindolol) ou les inhibiteurs du système rénine-angiotensine (captopril, losartan), ont déjà été explorés chez le lapin de Goldblatt 1K,1C lors d'études chroniques (Cimini et al., 1991; Rials et al., 2001; Rials et al., 1998). Nous avons entrepris la première étude des effets hémodynamiques et cardiaques des inhibiteurs sympathiques d'action centrale, dans notre modèle. En effet, seules des analyses hémodynamiques en aigu chez des lapins normotendus et le lapin de Goldblatt 2K,1C (Badoer et al., 1983; Burke et al., 1998; Head and Burke, 2004) ont à ce jour été réalisées. De plus, des analyses en chronique ont uniquement été faites chez les lapins normotendus (Parkin et al., 2003). Aucune approche des actions cardiaques de ces produits n'a encore été faite chez le lapin hypertendu.

Avant de débiter toute étude chronique, il nous a paru indispensable de préciser le profil d'action pharmacologique de plusieurs chefs de file d'inhibiteurs sympathiques centraux. Les inhibiteurs sympathiques d'action centrale diminuent la pression artérielle en agissant sur des récepteurs adrénergiques α_2 ($RA\alpha_2$) et/ou des récepteurs I_1 (RI_1), pour lesquels ils ont des affinités variables, comme cela a été décrit dans l'introduction générale. La variabilité du profil pharmacologique de ces substances, nous a conduit à nous demander si elle pouvait conduire à des effets hémodynamiques et cardiaques différents dans l'hypertension artérielle. Nous avons donc étudié les effets en aigu de 4 produits différents, allant d'une très forte sélectivité pour les $RA\alpha_2$ à une sélectivité très forte pour les RI_1 . Les produits choisis ont été la dexmédomidine un agoniste des $RA\alpha_2$, la clonidine un produit avec une affinité un peu plus forte pour les $RA\alpha_2$ que pour les RI_1 , la rilménidine une substance plus sélective pour les RI_1 que pour les $RA\alpha_2$ et le LNP599 un composé sélectif pour les RI_1 , synthétisé dans notre laboratoire (tableau 1).

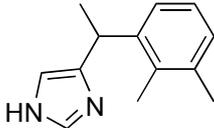
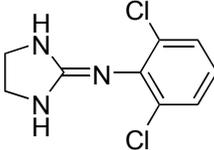
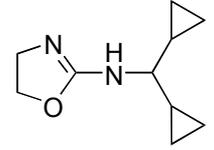
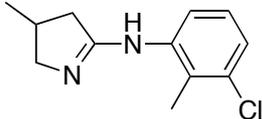
Composé	Structure	Liaison spécifique (Ki en nM)	
		RI ₁	RA _α ₂
Dexmédétomidine		637	13,2
Clonidine		1	3,8
Rilménidine		5,3	113
LNP599		8,2	> 10 000

Tableau 1 : Comparaison de l'affinité (valeur de Ki) des différentes substances pour les RA_α₂ et pour les RI₁. Pour la dexmédétomidine, la clonidine et la rilménidine, les valeurs ont été obtenues à partir de différentes études (Ernsberger et al., 1993; Jasper et al., 1998; Piletz and Sletten, 1993). Pour le LNP599, l'étude des liaisons spécifiques des RA_α₂ et RI₁ ont respectivement été faites sur des CHO (Chinese Hamster Ovary) par les laboratoires Servier, et sur des plaquettes humaines par l'équipe du Dr. C. Gachet (INSERM U311, Biologie et Pharmacologie de l'Hémostase et de la Thrombose, Strasbourg).

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Protocole

5 semaines après l'opération, chez le lapin 1K,1C(HVG), nous avons étudié les effets hémodynamiques et cardiaques des quatre inhibiteurs sympathiques centraux décrits.

5 groupes, recevant chacun une substance différente, ont été formés :

- Sérum physiologique (SP, volume injecté équivalent à celui injecté pour les autres groupes, n=8)
- Dexmédétomidine (Dex, 5 µg/kg, i.v., n=9)
- Clonidine (Clo, 30 µg/kg, i.v., n=8)

- Rilménidine (Ril, 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$, i.v., n=7)
- LNP599 (5 mg/kg, i.v., n=5)

Nous avons suivi le protocole ci-dessous (figure 1) :

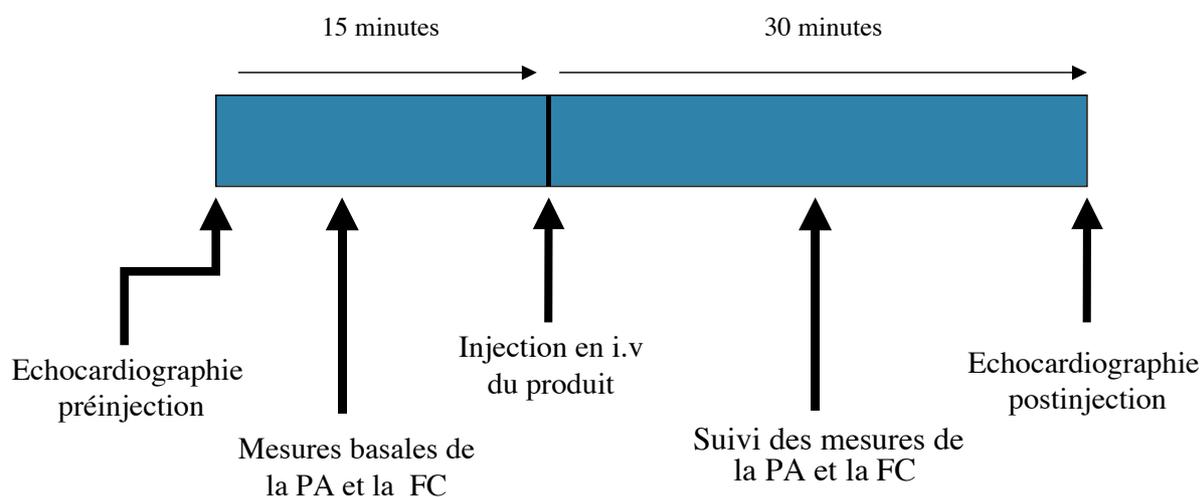


Figure 1 : Protocole d'étude des effets en aigu des divers inhibiteurs sympathiques centraux.

La pression artérielle a été mesurée par la technique du cathétérisme de l'artère médiane de l'oreille comme décrit dans la section 2.2.1 du chapitre I. Notre étude échocardiographique a, quant à elle, eu pour but d'étudier les effets de ces drogues sur les fonctions systolique et diastolique.

2.2. Statistiques

Avant l'administration des différents produits, les valeurs de bases dans chacun des groupes devant recevoir un inhibiteur sympathique ont été comparées avec le test de la variance ANOVA, test qui a été suivi par le test de Bonferroni afin de déterminer les différences entre les groupes.

Les effets de chacun des produits ont également été comparés avec le test de la variance ANOVA, suivie du test de Bonferroni.

La différence a été considérée comme significative lorsque $*p < 0,05$.

3. RESULTATS

3.1. Effets sur la pression artérielle et la fréquence cardiaque

Avant l'injection, tous les lapins de chaque groupe présentent une hypertension artérielle. Dans les 5 groupes, la pression artérielle (PA) et la fréquence cardiaque (FC) sont semblables (tableau 2). Les valeurs observées dans les groupes Dex, Clo, Ril et LNP599 ne diffèrent pas du groupe SP.

Paramètres	Sérum physiologique	Dexmédétomidine	Clonidine	Rilménidine	LNP599
PAS (mmHg)	139 ± 6,1	141 ± 9,8	132 ± 5,3	135 ± 5,8	132 ± 5,4
PAD (mmHg)	107 ± 4,6	109 ± 7,3	105 ± 4,6	105 ± 4,6	109 ± 3,4
PAM (mmHg)	117 ± 5,0	119 ± 8,0	114 ± 4,5	115 ± 4,9	116 ± 4,3
FC (bpm)	205 ± 5,9	206 ± 9,8	208 ± 6,5	214 ± 6,9	207 ± 6,7

Tableau 2 : Valeurs de base de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque dans les différents groupes de lapins. Les groupes sont comparés par le test de variance ANOVA.

30 minutes après l'injection, le sérum physiologique n'induit aucune modification de la PA et de la FC. Par contre, la Dex, la Clo, et la Ril ont des effets hypotenseurs significatifs comparés au groupe SP : la PA est réduite en moyenne de 15 %, 13 %, 19 %, respectivement (figures 2A, B et C). Dans le groupe LNP599, la baisse de 9 % de la PA n'est pas significative (un effectif plus important nous aurait permis de confirmer l'effet hypotenseur observé dans ce groupe). Par ailleurs, tous les inhibiteurs sympathiques testés ont un effet bradycardisant significatif comparé au groupe SP : la FC est diminuée de 25 %, 15 %, 23 % et 15 %, respectivement (figure 2D).

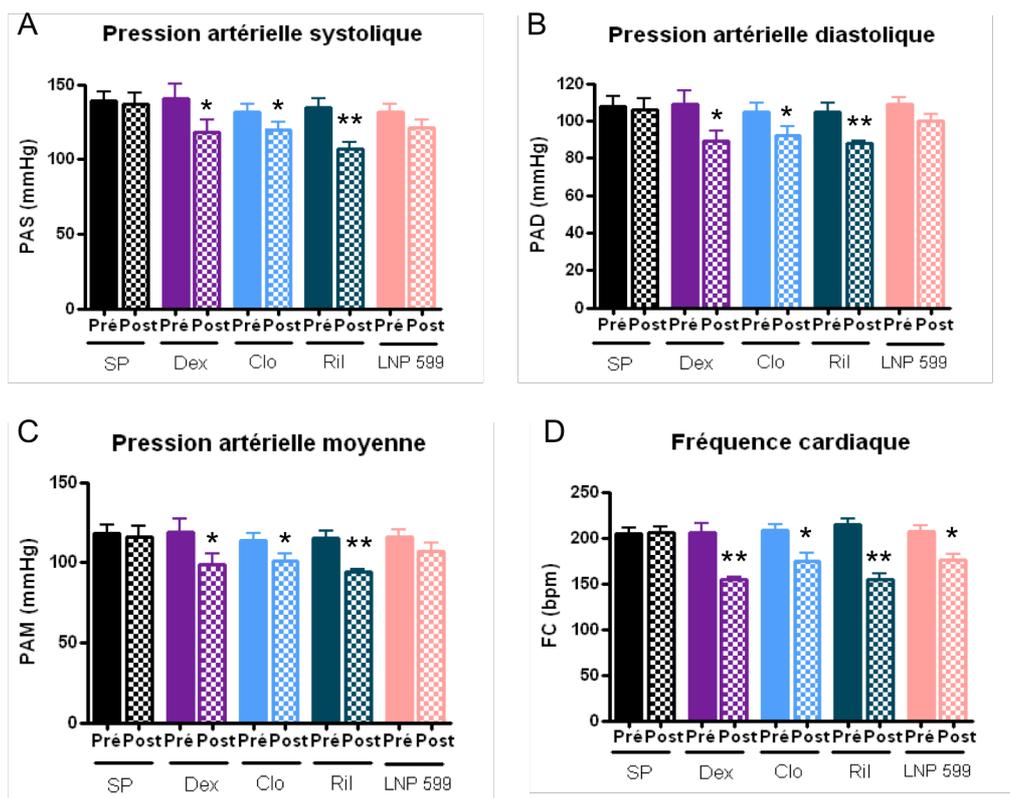


Figure 2 : Comparaison des effets de l'injection des différents produits sur la PAS (A), la PAD (B), la PAM (C) et la FC (D), mesurées de façon invasive. Les valeurs après l'injection ont été comparées entre elles par le test de variance ANOVA, qui a été suivi par celui de Bonferroni. *p<0,05 et **p<0,01 vs post SP.

3.2. Effets sur la fonction systolique

Les valeurs de base ne sont pas significativement différentes entre les groupes (tableau 3). La FE est supérieure à 40%, donc aucun groupe ne présente d'altération de la fonction systolique.

Paramètres	Sérum physiologique	Dexmédtomidine	Clonidine	Rilménidine	LNP599
FR (%)	35 ± 1,0	31 ± 1,5	31 ± 1,2	32 ± 2,7	31 ± 0,9
FE (%)	67 ± 1,5	61 ± 2,4	63 ± 2,1	62 ± 3,4	63 ± 1,1
Débit (ml/min)	779 ± 67	824 ± 100	938 ± 138	749 ± 51	752 ± 61
FC (bpm)	213 ± 7,1	208 ± 8,3	218 ± 12,0	206 ± 6,8	212 ± 3,5

Tableau 3 : Valeurs de base de quelques paramètres de la fonction systolique dans les différents groupes de lapins. Les valeurs des différents groupes sont comparées par le test de variance ANOVA, suivi par le test de Bonferroni.

30 minutes après l'injection, à la dose utilisée, aucun produit n'induit de baisse de la fraction d'éjection, ils n'ont donc pas d'effet inotrope négatif visible (figure 3).

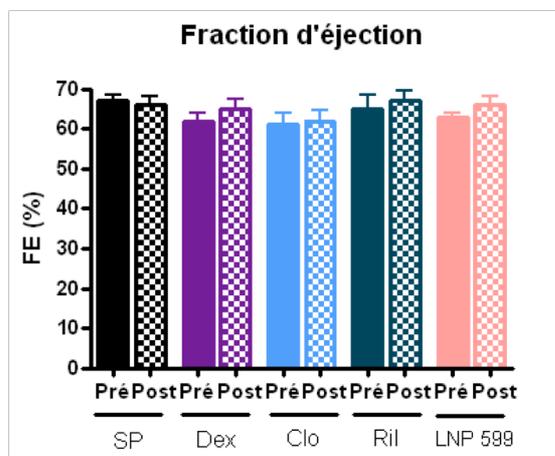


Figure 3 : Comparaison des effets des différents produits sur la fraction d'éjection.

3.3. Effets sur la fonction diastolique

Tous les lapins développent un trouble de relaxation ventriculaire gauche : nous observons un rapport E/A < 0, une augmentation du TRIV et une augmentation du rapport S/D, du fait d'une baisse de l'onde D (tableau 4). Les pressions de remplissage ne sont pas augmentées.

Ces paramètres diastoliques sont comparables entre les différents groupes, excepté la vitesse de l'onde Ar qui est plus basse dans le groupe SP que dans les autres groupes.

Paramètres	Sérum	Dexmédétomidine	Clonidine	Rilménidine	LNP599
	physiologique				
E (cm/s)	48 ± 4,4	49 ± 3,9	53 ± 5,4	44 ± 3,4	40 ± 4,3
A (cm/s)	54 ± 5,0	54 ± 2,1	59 ± 3,6	55 ± 3,7	56,5 ± 4,6
E/A	0,88 ± 0,06	0,83 ± 0,03	0,82 ± 0,03	0,79 ± 0,03	0,71 ± 0,02
TRIV	52 ± 2,8	52 ± 2,5	57 ± 0,8	54 ± 2,4	60 ± 4,2
Ar	16,5 ± 1,7	18,9 ± 1,4	18,4 ± 0,7	18,4 ± 1,0	18,6 ± 1,0
Dur(Ar-A) (ms)	-9 ± 4,5	-3 ± 6,1	-8 ± 5,0	-10 ± 4,8	-14 ± 3,5
S/D	1,1 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,2 ± 0,1

Tableau 4 : Valeurs de base de quelques paramètres de la fonction diastolique dans les différents groupes de lapins. Les valeurs des différents groupes sont comparées par le test de variance ANOVA.

30 minutes après l'injection, les différents produits testés ont provoqué des effets variables sur la fonction diastolique. Ni l'injection de sérum physiologique, ni celle de la clonidine n'engendre de modification du remplissage du VG. Par contre, nous observons une augmentation significative du rapport E/A dans le groupe Ril par rapport au groupe SP et au groupe Clo. Dans les groupes LNP599 et Dex l'augmentation de ce rapport est significative comparé au groupe Clo (figure 4A).

Dans les groupes ayant reçu la rilménidine et le LNP599, le changement du rapport est uniquement expliqué par une réduction importante de la vitesse de l'onde A (figure 4B) ; elle devient alors significativement plus basse que celle observée dans les groupes SP et Clo. Dans le groupe Ril, la vitesse devient même inférieure à celle observée chez des lapins normotendus (cf. chapitre 1, §6.3) : $36 \pm 1,6$ cm/s vs $44,5 \pm 3,0$ cm/s.

Dans le groupe Dex, la réduction de l'onde A n'est pas significative.

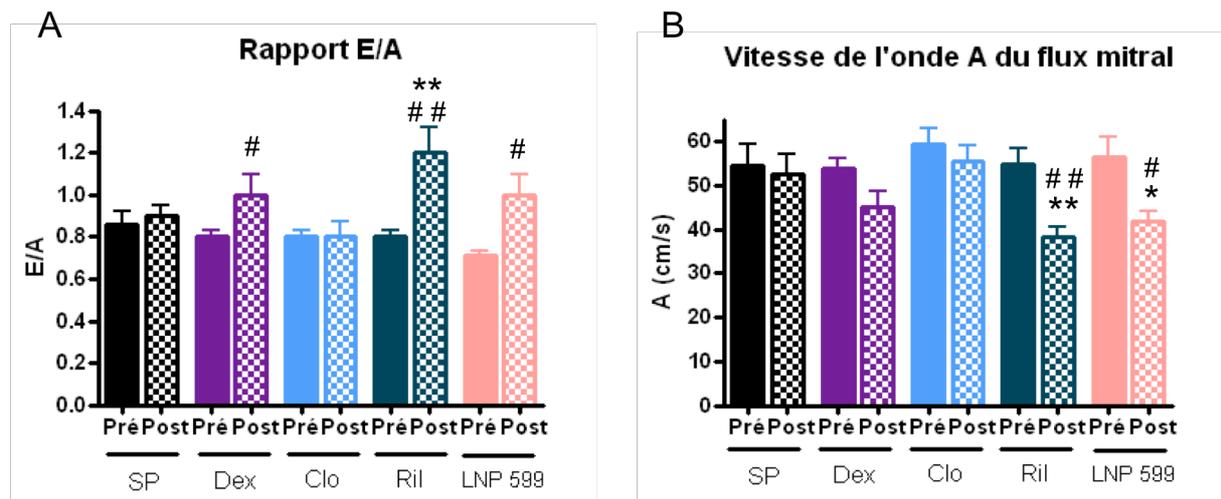


Figure 4 : Comparaison des effets des différents produits après l'injection, sur la vitesse de l'onde A (A) et sur le rapport E/A (B). Les valeurs après l'injection ont été comparées entre elles par le test de la variance ANOVA, suivi par celui de Bonferroni. * $p < 0,05$ et ** $p < 0,01$ vs post SP ; # $p < 0,05$ et ## $p < 0,01$ vs post Clo.

La baisse de la vitesse de l'onde A pourrait être expliquée par différents mécanismes : une augmentation des pressions de remplissage du VG, une baisse des pressions dans l'OG ou encore une altération de la fonction systolique de l'OG.

Plusieurs éléments nous laissent présager qu'il ne s'agit pas d'une augmentation des pressions de remplissage du VG, car la différence entre les durées des ondes Ar et A reste inférieure à 0 et la vitesse de l'onde E n'est pas augmentée (Figure 5A). Elle est au contraire réduite dans le

groupe Dex, pouvant signifier une majoration de l'altération de la relaxation ventriculaire gauche par ce produit.

Une hypothèse plus probable serait une baisse de la contractilité de l'OG conduisant à la réduction de l'onde A mitrale. Cette hypothèse peut être appuyée par une réduction simultanée de l'onde Ar du flux veineux pulmonaire par la Ril et le LNP599 ceci n'étant pas observé dans le groupe Clo, mais cet effet n'est pas significatif entre ces groupes (Figure 5B). De plus, pour ce paramètre, la Ril et le LNP599 ne sont pas comparables au groupe SP car la vitesse de l'onde Ar de base est plus basse dans le groupe SP.

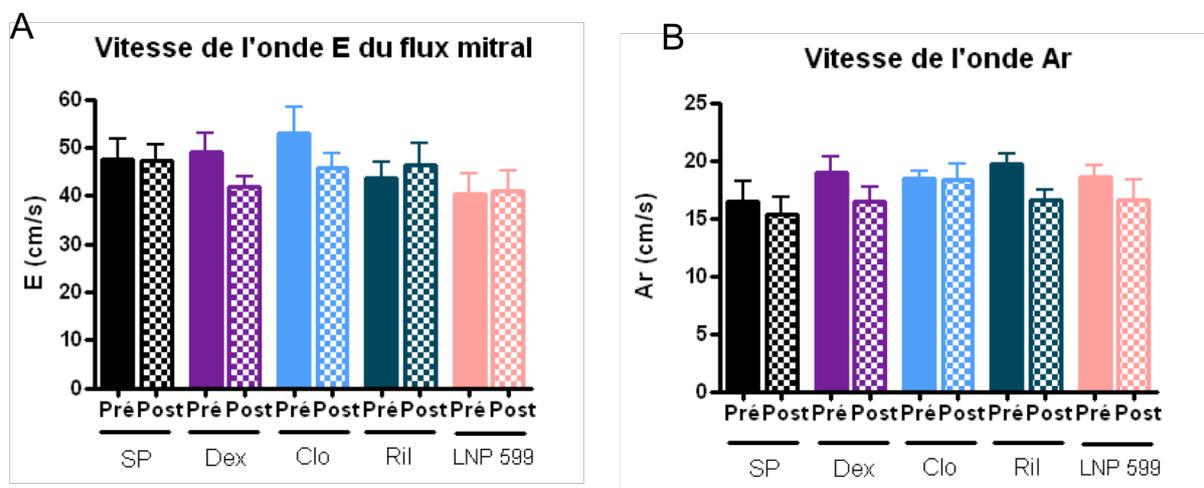


Figure 5 : Comparaison des effets des différents produits avant et 30 min après l'injection sur les vitesses de l'onde E (A) et de l'onde Ar (B).

Les différents effets sur la diastole que nous avons observés ne semblent pas être reliés à l'effet bradycardisant. La Ril a un effet bradycardisant plus important que le LNP599, pourtant les effets observés vont dans le même sens. En outre, le LNP599 et la Clo induisent des effets cardiaques totalement différents, alors que la bradycardie est identique.

4. DISCUSSION

Nous avons séparé cette discussion en deux parties : dans un premier temps, nous avons discuté les doses utilisées, puis, avons alors pu discuter de la différence des effets hémodynamiques observée entre chacun de ces produits.

Nous avons tout d'abord voulu comparer nos résultats avec des études antérieures et avons pour cela choisi des travaux réalisés chez le lapin conscient, les injections des différents produits ayant été effectuées par voie intra-veineuse (Blake, 2000; Chan and Head, 1996; Head and Burke, 2004; Urban et al., 1994) (Tableau 5).

	Nos travaux	Autres études	
Dexmédétomidine	5 µg/kg	Normotendu (3 µg/kg) (1)	
	PAM 10 % FC 31 %	PAM 23 % FC 14 %	
Clonidine	30 µg/kg	Normotendu (13,3 µg/kg) (2)	
	PAM 11 % FC 16 %	PAM 18 % FC 14 %	
Rilménidine	300 µg/kg	Normotendu (300 µg/kg)(3)	2K,1C (273 µg/kg) (4)
	PAM 17 % FC 28 %	PAM 15-20 % FC 15 %	PAM 18 % FC 14 %

Tableau 5 : Comparaison de nos résultats à des travaux antérieurs, sur la pression artérielle et la fréquence cardiaque. (1) DW Blake 2000 (2) Chan CK 1996 (3) R Urban 1994 (4) GA Head 2004. Dans toutes les études, les produits ont été administrés par voie intra-veineuse chez le lapin éveillé.

La dose que nous avons utilisée avec la rilménidine est totalement comparable aux doses choisies dans les deux études que nous avons citées, et l'effet hypotenseur observé est similaire.

L'étude de Blake et al. ont testé la dexmédétomidine aux doses de 3 et 10 µg/kg, les effets hémodynamiques observés sont équivalents pour les 2 doses. Dans notre étude, nous avons

utilisé une dose intermédiaire, cependant l'effet hypotenseur que nous observons est bien moindre.

Dans un premier temps, nous avons testé la clonidine à la dose de 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$, mais l'absence d'effet significatif nous a amené à augmenter la dose à 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$. La dose choisie est donc deux fois plus importante que celle qui a été utilisée dans l'étude de Chan et al. ; pourtant, l'effet hypotenseur est moins important. Cependant, du fait d'un nombre limité d'études ayant observé les effets par voie intra-veineuse de la clonidine chez le lapin éveillé, il nous a été difficile de comparer nos résultats à d'autres études, afin de vérifier ce que nous avons observé.

Tous les produits que nous avons testés induisent une bradycardie plus importante chez le lapin 1K,1C(HVG) que dans les autres études. Cela pourrait être expliqué par la présence de l'hyperactivité sympathique chez le lapin 1K,1C (Tanaka et al., 1982; Vlachakis et al., 1984) et d'une HVG ; une inhibition du SNS par ces produits serait alors d'autant plus efficace dans la baisse de la FC. Dans une étude clinique, la rilménidine a eu un effet bradycardisant plus important chez des patients présentant une HVG que chez des patients hypertendus sans HVG, les auteurs en déduisent que le SNS est fortement impliqué dans le développement de l'HVG (Farsang et al. 2003).

Nous avons ensuite comparé les doses utilisées entre chacun de nos groupes et nous avons pu observer que, plus la molécule présente une sélectivité importante pour les RI_1 , plus la dose du produit à injecter doit être importante pour être efficace ; les concentrations allant de 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ avec la dexmédétomidine à 5 mg/kg avec le LNP599. Trois hypothèses peuvent être proposées : une différence d'affinité, la présence d'une synergie entre les $\text{RA}\alpha_2$ et RI_1 , et une différence de lipophilie. Considérons l'hypothèse de l'affinité : dans le tableau 1, nous observons que les affinités pour les RI_1 sont du même ordre de grandeur pour la clonidine, la rilménidine et le LNP599, et moins bonne pour la dexmédétomidine. L'affinité pour les RI_1 n'est pas corrélable avec le gain de sélectivité pour ces récepteurs. Il ne semble donc pas y avoir de corrélation entre les concentrations utilisées et l'affinité pour les RI_1 . Par contre, nous observons que la baisse de sélectivité pour les $\text{RA}\alpha_2$ est accompagnée d'une baisse d'affinité pour ces récepteurs. La dexmédétomidine présente une meilleure sélectivité et affinité pour les $\text{RA}\alpha_2$ que le LNP599. Donc, une perte d'affinité pour les $\text{RA}\alpha_2$ pourrait être impliquée dans la nécessité d'augmenter les doses. Cette hypothèse irait rejoindre la deuxième hypothèse que nous avons posée : l'existence d'une synergie entre les deux récepteurs. En

effet, une des études antérieures effectuées dans notre laboratoire a mis en évidence la présence d'une synergie entre les RA α_2 et les RI $_1$. Une injection intra-cisternale d'une faible dose d'un agoniste très sélectif pour les RA α_2 ou d'un produit très sélectif pour les RI $_1$ induisent chacun une baisse modérée, voire nulle, de la pression artérielle. Lorsque l'injection de l'agoniste des RA α_2 , à la même dose, précède celle du produit imidazolinique, l'effet hypotenseur est fortement amplifié (Bruban et al., 2002). Donc, plus le produit est sélectif pour les RI $_1$, moins cette synergie est possible, d'où la nécessité d'augmenter les doses. Une troisième explication de doses utilisées serait une différence des propriétés physico-chimiques entre les produits. Pour atteindre leur site d'action central, les produits doivent passer la barrière hémato-encéphalique (BHE), donc présenter une bonne lipophilie. Une bonne lipophilie, pour des dérivés aminés tels que les nôtres, est obtenue s'il y a un log P assez élevé, et un pKa proche du pH physiologique. Les différents composés présentent un log P convenable, cependant nous constatons que la rilménidine et le LNP599, qui ont une sélectivité certaine pour les RI $_1$, sont plus basiques que la dexmédétomidine et la clonidine (tableau 6). Donc la quantité de molécules sous forme neutre est moins élevée, limitant la quantité de produits franchissant la BHE. Le pKa va de 7,1 pour la dexmédétomidine à 9,7 pour le LNP599. Ainsi, la dose des agents moins lipophiles doit être plus élevée pour atteindre une concentration efficace dans le bulbe rachidien. Les différentes hypothèses développées permettent donc d'expliquer les différentes doses que nous avons dues utiliser pour observer des effets hypotenseurs et bradycardisants proches entre les produits.

	Log P	pKa
Dexmédétomidine	3	7,1
Clonidine	1,59	8,11
Rilménidine	1,63	9,22
LNP599	1,22	9,68

Tableau 6 : Propriétés physico-chimiques des produits testés (Valeurs obtenues à partir de différentes sources : Drug Bank à l'Université d'Alberta, Canada ; Rouot et al., 1976; Taillardat-Bertschinger et al., 2002 ; Travail collaboratif avec le laboratoire de PA Carrupt à Genève)

Intéressons-nous pour finir aux effets hémodynamiques des différents produits. Les quatre inhibiteurs centraux du SNS testés ont des effets bradycardisant et hypotenseur, sans action

inotrope négative. Cependant, ils se différencient par leurs effets sur la fonction diastolique ventriculaire gauche. La rilménidine, ayant une affinité pour les deux récepteurs, mais avec plus forte sélectivité pour les RI_1 que la clonidine, aurait un effet inotrope négatif sur la fonction auriculaire (réduisant ainsi le remplissage actif du VG). Nous retrouvons cet effet lusitrope négatif avec le LNP599, un agent sélectif des RI_1 . Par ailleurs, la dexmédétomidine, sélective des $RA\alpha_2$, a également un effet sur la fonction diastolique, elle réduit la vitesse des ondes E et A. Par contre la clonidine, ayant une bonne affinité pour les deux récepteurs, n'a pas de conséquence la fonction diastolique, le remplissage actif n'est pas touché. Par ces résultats, nous pouvons donc déjà supposer que les $RA\alpha_2$ ne seraient pas impliqués dans la différence entre les effets observés. Mais nous essayerons d'expliquer les causes pharmacologiques de ces observations dans notre discussion générale, en regroupant l'ensemble des résultats de ce manuscrit.

5. CONCLUSION

Cette partie du travail nous a permis de confirmer que notre modèle est sensible, et répond aux antihypertenseurs d'action centrale, il nous a donc permis de mettre en place des études chroniques, avec un de ces produits.

Dans la suite de nos travaux chez les lapins 1K,1C(HVG), nous avons choisi d'étudier les effets cardiaques chroniques de la **rilménidine**, malgré les effets non bénéfiques de son injection en aigu sur la contractilité de l'OG. Différentes raisons nous ont poussées à choisir cette molécule : **(1)** avant d'évaluer les effets cardiaques chroniques d'un produit sélectif comme le LNP599, il nous fallait établir les effets d'un médicament déjà connu et présentant une certaine sélectivité pour les RI_1 , **(2)** la rilménidine a des effets sédatifs bien moins importants que la clonidine, **(3)** les 3 études cliniques ayant observé les effets de la rilménidine sur la fonction diastolique sont trop succinctes pour établir des conclusions, **(4)** les effets observés en aigu ne sont pas forcément comparables à ceux qui pourraient être observés en chronique.

CHAPITRE 3

ETUDES CHRONIQUES CHEZ LES LAPINS HYPERTENDUS

1. INTRODUCTION

Dans notre modèle d'hypertension artérielle, nous avons montré que la rilménidine, un produit de type imidazolinique, induit un effet anti-hypertenseur, accompagné d'un fort effet bradycardisant, sans altérer le débit cardiaque. Mais administrée en aigu, la rilménidine n'a pas de conséquence bénéfique sur la fonction diastolique. Comme décrit dans l'introduction générale, un traitement efficace de la cardiopathie hypertensive doit comprendre 3 effets : un effet antihypertenseur, une action antihypertrophique et une amélioration de la fonction diastolique du VG, ceci sans altération du débit cardiaque. La rilménidine semble donc présenter des limites. Cependant, les effets obtenus en aigu ne sont pas forcément comparables à ceux observés en chronique. Diverses études en aigu réalisées avec des inhibiteurs du système rénine-angiotensine ou encore des β -bloqueurs ont montré des effets plutôt délétères sur la diastole (Modersohn et al., 1994; Traub et al., 1990). Mais parallèlement à cela, d'autres études ont montré l'efficacité d'une administration chronique d'IEC, d'antagonistes des récepteurs AT₁, d'inhibiteurs calciques ou encore d'antagonistes de l'aldostérone sur la dysfonction diastolique chez des patients hypertendus (Diamond and Phillips, 2005; Krishnan et al., 2003). De même, des études chroniques ont montré l'intérêt d'une inhibition périphérique du SNS, par des β -bloqueurs, dans le traitement de la dysfonction diastolique. Des études cliniques ont mis en évidence l'effet bénéfique des β -bloqueurs sur le remplissage ventriculaire gauche chez des patients présentant une cardiopathie hypertensive (Nodari et al., 2003b; Schobel et al., 1996; White et al., 1989), et une étude préclinique a montré, chez le rat de Dahl, une prévention de l'aggravation de la fonction diastolique par le métoprolol (Kobayashi et al., 2004).

Lors d'études réalisées en aigu, un produit testé, tel la rilménidine, ne peut pas induire de modification du remodelage cardiaque, or une réduction de l'HVG semble être un important facteur dans le traitement de la cardiopathie hypertensive. Des études pré-cliniques et cliniques ont déjà mis en évidence l'efficacité de la rilménidine dans la réduction de l'HVG (Amann et al., 1992; Bobik et al., 1998; Farsang et al., 2003; Huting et al., 1991; Sadowski et al., 1998). Il reste encore à analyser les conséquences d'une administration chronique de ce produit sur la fonction diastolique.

L'évaluation d'un intérêt potentiel d'une inhibition centrale du SNS par des agents imidazoliniques dans le traitement de la dysfonction diastolique est encore trop succincte et les résultats obtenus sont souvent contradictoires. Chez des patients hypertendus, un

traitement chronique avec la clonidine n'a montré aucun effet bénéfique significatif sur la fonction diastolique, malgré une baisse de la pression artérielle et une régression de l'HVG (Huting et al., 1991). Par contre, chez le rat 1K,1C, la clonidine améliore l'élasticité du VG (Thomas et al., 2003). La rilménidine a également fait l'objet d'études cliniques, mais les résultats obtenus sur la fonction diastolique ne permettent pas de porter des conclusions. Trois semaines de traitement avec la rilménidine induit, en plus de ses effets hypotenseur et antihypertrophique, une augmentation du rapport E/A (Koldas et al., 2003). Par contre, un traitement pendant deux ans avec ce produit, n'a aucun effet bénéfique sur la dysfonction diastolique associée à l'HTA (Farsang et al., 2003). Une troisième étude clinique a comparé la rilménidine à la nifédipine (un antagoniste calcique) mais n'a fait que montrer l'absence de différence entre les deux traitements sur le rapport E/A, aucune valeur n'est donnée (Sadowski et al., 1998).

Il était nécessaire de faire le point sur l'intérêt de la rilménidine dans le traitement de la dysfonction diastolique associée à l'HTA. Dans cette partie du travail, nous avons donc réalisé une étude chronique avec ce produit en faisant une analyse complète de ces effets dans le traitement de la cardiopathie hypertensive dans notre modèle 1K,1C(HVG). Nous avons ainsi évalué ses actions sur les paramètres hémodynamiques, sur la masse du VG et sur la fonction diastolique.

La mise en place de ce traitement chronique a dans un premier temps nécessité la réalisation des diverses études préliminaires afin de définir le mode d'administration et la dose qui étaient les plus appropriés à notre étude.

2. REALISATION D'ETUDES PILOTES

2.1. Pharmacocinétique : voie d'administration

Dans le choix du mode d'administration, il faut tenir compte de la pharmacocinétique du médicament, car pour qu'un traitement chronique soit efficace, il est nécessaire que le traitement couvre le cycle nyctéméral. Il existe deux modes d'administration :

- l'administration en bolus, par gavage ou par injections (sous-cutanée, intra-veineuse ou intra-péritonéale) ;

- l'administration en continu dans l'eau de boisson, dans l'alimentation, par l'intermédiaire d'une pompe osmotique, ou encore au moyen d'un patch transcutané.

Une injection en bolus est efficace si la demi-vie du produit est suffisante pour maintenir une concentration thérapeutique efficace toute la journée. Chez le rat, une étude de pharmacocinétique a montré une élimination très rapide de la rilménidine lorsqu'elle est injectée par voie intra-péritonéale à une dose de 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Monassier et al., 2004). Mais aucune étude semblable n'avait encore été effectuée chez le lapin.

Nous avons donc testé la durée d'action de la rilménidine lorsqu'elle est injectée par voie i.v. à la dose de 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$. cette dose a été choisie car nous avons pu montrer son efficacité par cette voie d'administration dans le chapitre précédent.

L'étude pharmacocinétique avec la rilménidine a été réalisée sur 4 lapins. Suite à l'injection, nous avons réalisé une série de prélèvements sanguins à différents temps, au niveau de la veine marginale de l'oreille : juste après l'injection, puis 15 et 30 minutes, puis, 1, 2, 4, 6, 8 et 24 heures suivant l'injection. La concentration plasmatique de la rilménidine a alors été mesurée à chacun de ces temps par les laboratoires Servier.

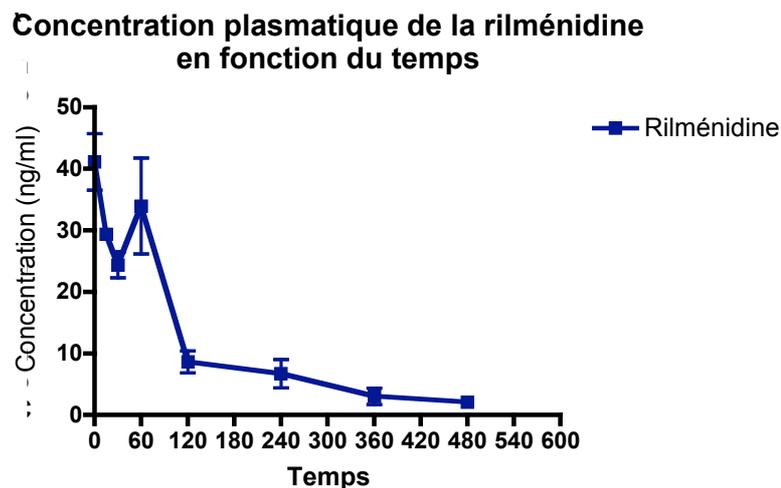


Figure 1 : Evolution de la concentration plasmatique de la rilménidine en fonction du temps, suite à une injection de ce produit en i.v. chez 4 lapins 1K,1C(HVG) à la dose de 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Tout comme chez le rat, nous avons observé une rapide décroissance de la concentration, et 4 heures après l'administration du produit, elle est inférieure à 10 ng/ml (figure 1). Donc, après une injection par voie intra-veineuse, le produit est rapidement éliminé. Afin de couvrir le traitement tout le long d'un cycle nyctéméral, il serait nécessaire de faire plusieurs injections dans la journée, une manipulation qui est trop contraignante pour l'animal (stress, infections).

Du fait d'un temps de demi-vie court du produit, un traitement délivré en continu serait plus approprié. L'administration du produit dans l'eau de boisson ou dans la nourriture a un inconvénient : l'accélération du métabolisme du médicament par le passage hépatique. Chez le lapin, nous n'avons à ce jour, trouvé aucune étude chronique utilisant ce mode d'administration. De plus, dans des études préliminaires, l'administration du traitement par l'eau de boisson n'a montré aucun effet visible. L'utilisation d'un patch transcutané serait trop complexe.

Nous avons donc choisi de délivrer le médicament par le moyen des minipompes osmotiques. Dans leur étude de pharmacocinétique, Monassier et al. ont également mesuré la concentration plasmatique de la rilménidine chez le rat, lorsque le produit était délivré par une minipompe osmotique sous-cutanée, et ils ont montré la présence d'une concentration stable durant tout le traitement (Monassier et al., 2004).

Nous avons alors cherché une dose efficace dans notre modèle pouvant être délivrée en continu.

2.2. Choix d'une dose

Dans une étude assez récente, Parkin et al. ont testé les effets hypotenseurs de la rilménidine administrée chroniquement chez des lapins normotendus (Parkin et al., 2003). Ils ont utilisé ce produit à la dose de 5 mg/kg/j délivrée par le moyen de minipompes osmotiques. Nous avons donc décidé de nous baser sur cette étude, d'autant plus qu'ils avaient utilisé le même mode d'administration que nous avons choisi. Aucune étude de ce type n'avait encore été réalisée chez le lapin hypertendu c'est pourquoi, avant de débiter tout traitement chronique, nous avons voulu déterminer si cette dose était efficace dans notre modèle. Donc similairement à l'étude de Parkin et al., nous avons fait une étude préliminaire en administrant la rilménidine par voie sous-cutanée à la dose de 5 mg/kg, et évaluant alors ses effets hémodynamiques.

La PA et la FC ont été mesurées de façon invasive dans l'artère centrale de l'oreille chez le lapin 1K,1C(HVG) éveillé. Après l'injection de la rilménidine, l'évolution des paramètres a été suivie durant 2h.

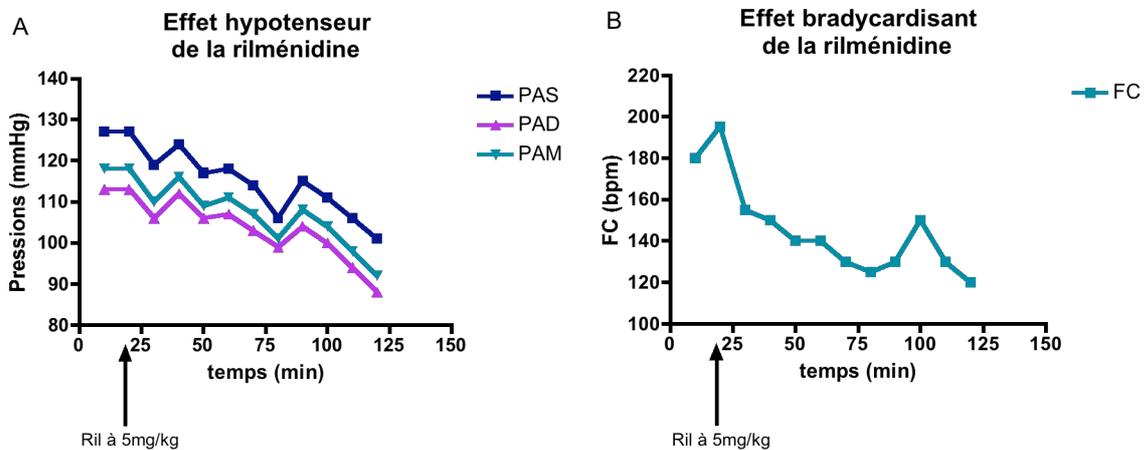


Figure 2 : Effets d'une administration de rilménidine à la dose de 5 mg/kg par voie sous-cutanée chez un lapin 1K,1C(HVG) sur les pressions artérielles systolique (PAS), diastolique (PAD) et moyenne (PAM) (A) et sur la fréquence cardiaque (FC) (B), pendant 2 heures.

L'administration de 5 mg/kg de rilménidine induit un fort effet hypotenseur et bradycardisant durant les 2 heures suivant la prise du médicament. Les PAS, PAD et PAM passent de 127, 113 et 118 à 101, 88, 92 mmHg (figure 2A) et la FC chute de 180 à 120 bpm (figure 2B). La PAM baisse alors de 26 mmHg, ce résultat est comparable à celui résultat de l'étude réalisée chez le lapin normotendu, où la PAM chute de 18,6 mmHg (Parkin et al., 2003).

2.3. Conclusion

Nos études préliminaires réalisées chez le lapin 1K,1C(HVG) ont permis de déterminer la dose et la voie d'administration semblant les plus appropriés dans notre étude : nous avons alors décidé d'étudier les effets de la rilménidine lorsqu'elle est délivrée en continu par le moyen d'une minipompe osmotique à la concentration de 5 mg/kg/j.

3. MISE EN PLACE DU TRAITEMENT CHRONIQUE

3.1. Protocole d'étude

Notre étude a été réalisée avec 25 lapins : 16 lapins 1K,1C et 8 lapins témoins ayant également subi une opération, mais sans néphrectomie, ni sténose.

5 semaines après l'opération une échocardiographie complète est réalisée sur chaque lapin et la pression artérielle mesurée de façon invasive et non-invasive. Parmi les lapins 1K,1C opérés, nous n'avons retenu que ceux ayant développé une hypertension artérielle (PAM>105mmHg), c'est à dire des lapins 1K,1C(HVG). Ces derniers sont alors séparés en 3 groupes de traitement :

- Placebo (n=6)
- Rilménidine (Ril) à 5 mg/kg/j (n=5)
- Métoprolol (Méto) à 30 mg/kg/j (n=5, dose choisie à partir des quelques études réalisée chez le lapin: Frolov et al., 2001; Sun et al., 1994.

Le traitement est effectué durant 6 semaines et administré par le moyen de minipompes osmotiques implantées en sous-cutané (Modèle 2ML2 Alzet, Charles Rivers).

Pendant le traitement, une échocardiographie et une mesure non-invasive de la pression artérielle sont effectuées tous les 15 jours. A la fin du traitement, ces mesures sont complétées par une évaluation invasive des pressions artérielles et cardiaques. Puis, l'animal est sacrifié par une dose létale de pentobarbital par voie intra-veineuse, afin de récupérer et peser le cœur puis séparément le VG le ventricule droit (VD) et les oreillettes. Ces masses sont corrigées par le poids de l'animal. Une rondelle du VG, coupée à la base du plancher atrio-ventriculaire, est mise dans du formol afin de réaliser des analyses histologiques : mesures de la surface des cardiomyocytes, de la surface des vaisseaux sanguins et de la densité de collagène.

En début et en fin de traitement, un prélèvement sanguin a été réalisé chez l'animal éveillé à la veine marginale de l'oreille. Le plasma est récupéré après une centrifugation à 2500 tr/min pendant 10 min pour doser la concentration plasmatique d'urée, de créatinine, de sodium, de potassium et de protéines totales.

En parallèle, la même étude est réalisée dans un groupe témoin normotendu (n=8) sans traitement, dans le but de comparer les effets des traitements à des valeurs normales et de voir ainsi l'amélioration des différents paramètres.

Ci-dessous, la figure 3 résume ce protocole :

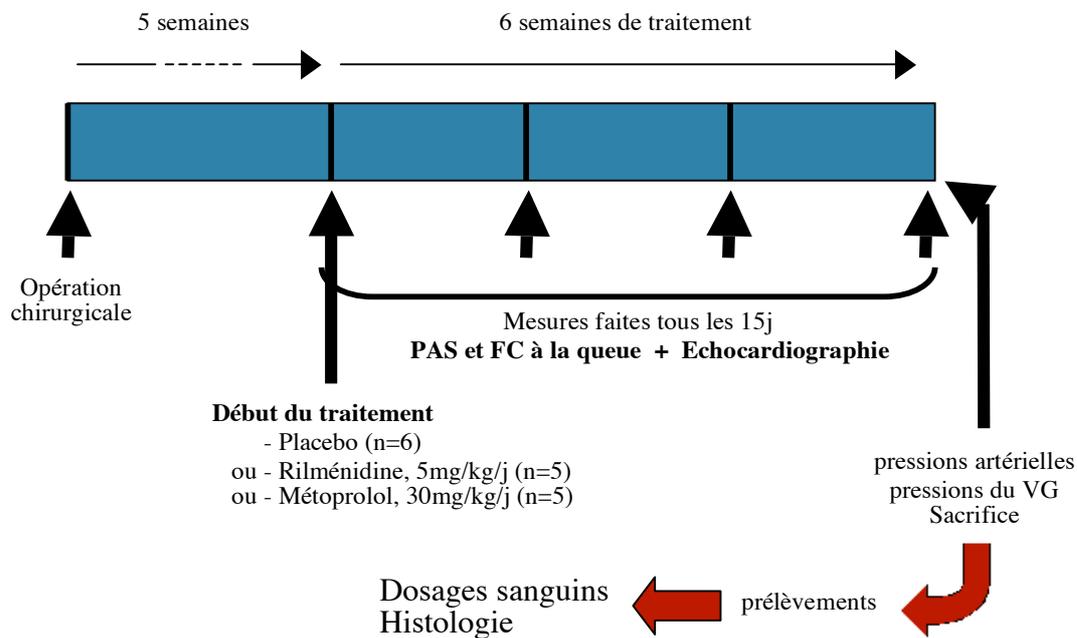


Figure 3 : Protocole d'étude

3.2. Mesure de la pression artérielle

La mesure invasive de la PA est réalisée comme décrit dans le chapitre 1, en laissant la boîte de contention ouverte.

La PA est également mesurée par une technique non-invasive, permettant une mesure répétée : la mesure de la pression à la queue (Ietica, Bioseb, France). L'animal est pour cela placé dans une boîte de contention fermée (tête à l'intérieur de la boîte) mais laissant accès à la queue, qui est rasée. Le capteur de pression utilisé est celui de la souris et le gonfleur celui du rat. Les PAS et FC sont fiables, par contre la PAD n'a pas toujours pu être prise en compte. Pour chaque lapin, la valeur retenue est la moyenne de 5 mesures.

3.3. Echocardiographie

Elle est réalisée selon le protocole décrit dans le chapitre 1 en positionnant l'animal debout.

Par contre, nous n'avons mesuré le mouvement de l'anneau mitral que du côté septal, car il n'était pas toujours possible d'obtenir une bonne fenêtre acoustique du côté latéral.

3.4. Pose des minipompes

La région entre les 2 omoplates est rasée, désinfectée, puis après une anesthésie locale avec de l'Emla® à 5% et de la lidocaïne à 2%, une incision est réalisée chez l'animal éveillé et une poche formée afin d'introduire la minipompe. Une suture est alors faite avec du fil résorbable, Vicryl 3/0. Chaque pompe libère le médicament à un débit de 5µl/h pendant 2 semaines, donc elle a dû être changée 2 fois afin maintenir le traitement durant 6 semaines.

3.5. Cathétérisme du ventricule gauche

Il est réalisé selon le protocole décrit dans le chapitre 1.

3.6. Histologie

L'inclusion des rondelles de VG dans la paraffine est réalisée par le service d'anatomie pathologique par le Dr. Gasser à l'hôpital Emile Muller à Mulhouse.

La coloration des coupes à l'hématoxyline-éosine, également réalisée dans le service du Dr. Gasser, nous a permis de mesurer la surface des cardiomyocytes par le logiciel Image J.

La coloration des coupes par le rouge Sirius est réalisée par l'institut de la clinique de la souris (Illkirch) et nous avons quantifié la densité de collagène grâce au logiciel d'imagerie TIMT, développé par le centre d'imagerie de l'IGBMC (Illkirch).

3.7. Statistiques

- ❖ Le test t de Student non-apparié a permis de comparer :
 - les valeurs basales des lapins témoins avec celles des lapins 1K,1C(HVG) à 5 semaines post-opératoire,
 - les valeurs de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque, mesurées de façon invasive, entre les groupes Ril et placebo, et entre les groupes Ril et Méto, en fin de traitement.

❖ Le test de la variance ANOVA a permis :

- de comparer les groupes témoins, Ril et placebo, entre eux, aux différents points de mesures (0, 2, 4 et 6 semaines). Le groupe Méto a uniquement été comparé au groupe Ril,
- d'évaluer dans un même groupe, l'évolution des paramètres au cours du temps avec des mesures répétées.

Ce test a été suivi par le test de Bonferroni afin de déterminer les différences entre les groupes.

Une différence est estimée significative lorsque $p < 0,05$.

4. CARACTERISTIQUES DE BASE DES LAPINS 1K,1C(HVG)

Les lapins 1K,1C(HVG) utilisés dans cette partie présentent les mêmes caractéristiques que celles des lapins 1K,1C(HVG) décrites dans le chapitre 1 : une forte hypertension artérielle (PAM > 105mmHg), associée à une HVG concentrique (une augmentation de la mVG et de l'épaisseur relative des parois), à un trouble primaire de relaxation (réversion des rapports E/A et Ea/Aa et augmentation du TRIV) et à l'absence de dysfonction systolique (tableau 1). La tachycardie observée dans ce groupe n'a pas été confirmée par les mesures non-invasives (la FC, obtenue par échocardiographie et par la technique de pression à la queue, est similaire entre les deux groupes).

Paramètres	Témoins (n=8)	1K,1C (n=16)
PAS (mmHg)	81 ± 1,4	131 ± 2,5**
PAD (mmHg)	59 ± 1,8	108 ± 1,8**
PAM (mmHg)	68 ± 0,7	116 ± 2**
FC (bpm)	205 ± 6,3	218 ± 5*
DTD (mm)	16,4 ± 0,2	16,2 ± 0,3
DTS (mm)	10,9 ± 0,1	10,7 ± 0,3
FE (%)	66 ± 1,1	66 ± 1,5
Débit (ml/min)	865 ± 50	845 ± 42
mVG (g)	3,6 ± 0,2	5,8 ± 0,2**
mVG/poids (g/kg)	1,5 ± 0,1	2,5 ± 0,1**
PP (mm)	1,8 ± 0,1	2,7 ± 0,1**
Septum (mm)	1,8 ± 0,1	2,7 ± 0,1**
E/A	1,3 ± 0,07	0,9 ± 0,04**
TRIV (ms)	45 ± 2,5	57 ± 2,1**
Ea/Aa	1,3 ± 0,07	1,0 ± 0,09**

Tableau 1 : Caractéristiques de base des lapins témoins et 1K,1C(HVG), 5 semaines après l'opération, *p<0,05 et **p<0,01.

5. EFFETS D'UN TRAITEMENT CHRONIQUE AVEC LA RILMENIDINE OU LE METOPROLOL

Les valeurs de base des paramètres hémodynamiques et échocardiographiques des groupes placebo, Ril et Méto sont comparables (figure 4, tableaux 5 et 6).

5.1. Effets hémodynamiques

La mesure pléthysmographique de la pression nous a permis de suivre l'évolution des pressions artérielles et de la fréquence cardiaque au cours du temps. Une mesure a été effectuée tous les 15 jours. Ainsi, nous avons observé, dès la deuxième semaine, un effet bradycardisant significatif de la rilménidine de 14 % : 201 ± 5 à 174 ± 5 bpm, placebo vs Ril, respectivement ($p < 0,01$). Cet effet est maintenu jusqu'à la fin du traitement: de 196 ± 8 à 177 ± 7 bpm, placebo vs Ril, respectivement ($p < 0,05$) (figure 4A). Dans le groupe Méto, une baisse de la fréquence cardiaque similaire à celle obtenue avec la rilménidine est observée uniquement après 6 semaines de traitement.

L'effet bradycardisant de la rilménidine est accompagné d'une réduction progressive de la PAS, cependant l'hypotension induite par la rilménidine ne devient pas significative après 6 semaines de traitement : elle passe de 128 ± 5 à 113 ± 10 mmHg dans les groupes placebo et Ril, respectivement (Figure 4B). L'absence de significativité est due à un important écart-type dans les groupes. Dans le groupe Méto, une baisse de la PAS similaire à celle observée avec la rilménidine est obtenue après 2 semaines de traitement. Cependant, après 4 et 6 semaines, cette pression retourne à l'état de base.

Le produit de la PAS et de la FC est un bon indicateur du travail cardiaque. Avant le début du traitement, ce produit est significativement augmenté chez les lapins 1K,1C(HVG), comparés aux lapins témoins ($p < 0,01$). La rilménidine permet une réduction progressive du travail cardiaque ; ce paramètre devient alors significativement inférieur à celui du groupe placebo à la fin du traitement ($p < 0,05$), et comparable au travail cardiaque dans le groupe témoin (figure 4C). Par contre, dans le groupe Méto, la baisse du travail cardiaque est moindre que celle observée dans le groupe traité avec la rilménidine, rendant alors plus difficile la comparaison entre les groupes Ril et Méto (figure 4C).

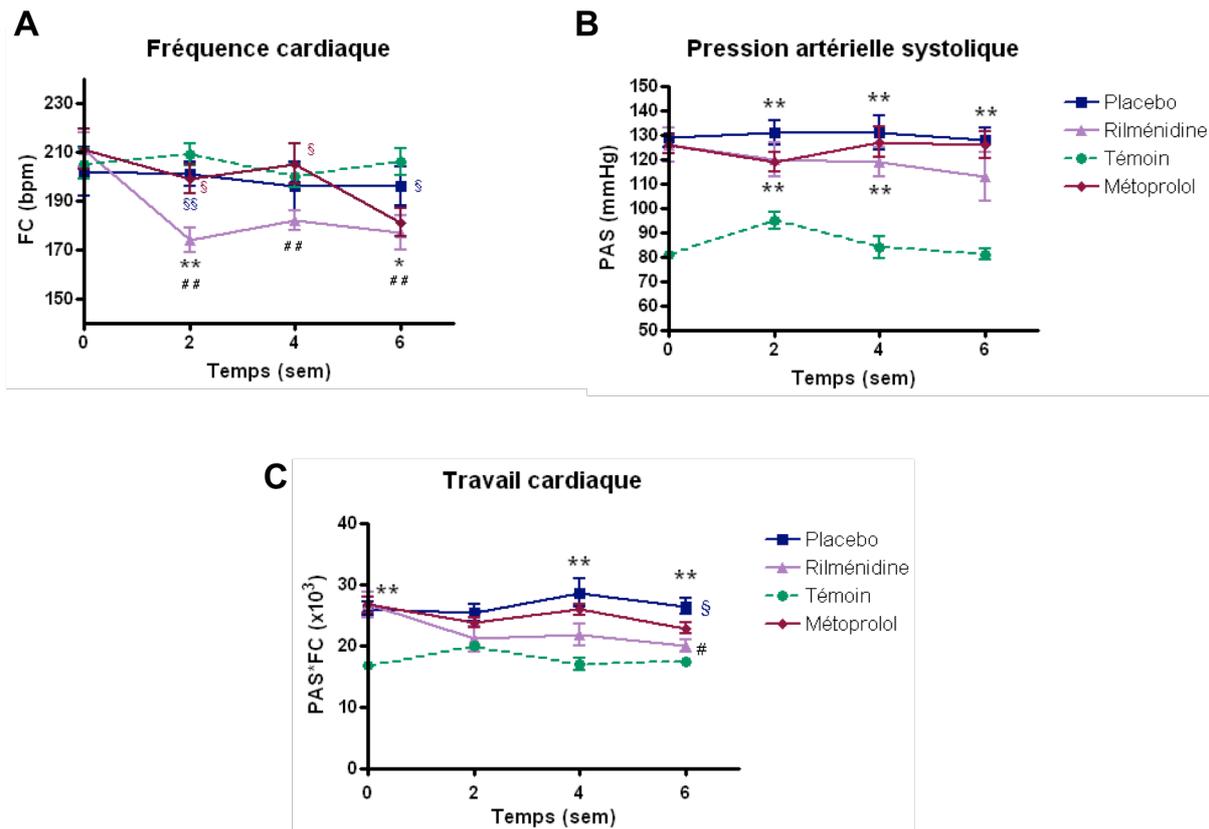


Figure 4 : Comparaison de l'évolution, au cours du temps, de la FC (A), de la PAS (B) et du double produit (C) dans les groupes témoin, placebo, Ril et Méto, réalisée par le test de variance ANOVA avec * $p < 0,05$ et ** $p < 0,01$: témoin vs Placebo ou Ril ; § $p < 0,05$ et §§ $p < 0,01$: placebo ou Méto vs Ril ; # $p < 0,05$ et ## $p < 0,01$: 2, 4 et 6 semaines vs pré-traitement.

Ces différents résultats sont confirmés par les mesures invasives, réalisées en fin de traitement. La PAS est légèrement réduite : 136 ± 3 vs 126 ± 5 mmHg ($p < 0,05$) pour les groupes placebo et Ril, respectivement (figures 5A). La FC est significativement plus basse dans le groupe Ril : 209 ± 11 vs 176 ± 9 bpm ($p < 0,01$). Par contre, la rilménidine ne semble avoir aucun effet sur la PAD, quelle que soit la technique de mesure de la PA. Ainsi, nous n'observons pas de réduction significative de la PAM. Dans le groupe Méto, la FC est comparable à celle du groupe Ril et la PAS est égale à celle du groupe placebo (figures 5A et 5B).

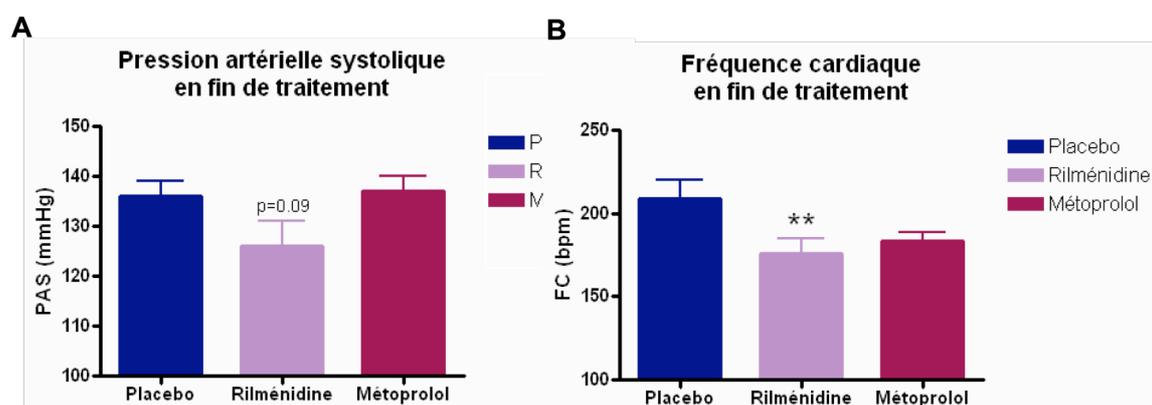


Figure 5 : Comparaison de la FC (A) et de la PAS (B) des groupes placebo et Ril et Méto en fin de traitement. Les valeurs sont obtenues par la mesure invasive des paramètres. La comparaison a été réalisée par le test t non apparié de Student avec **p<0,01.

5.2. Effets rénaux

	Urée (mmol/l)	Créatinine (mmol/l)	Sodium (mmol/l)	Potassium (mmol/l)	Protéines (g/l)
Témoin	5,4 ± 0,4	91 ± 3,4	149 ± 2,5	5,1 ± 0,4	49,3 ± 1,3
Placebo	6,9 ± 0,2*	111 ± 10,4	151 ± 1,8	5,8 ± 0,8	47,2 ± 1,4
Rilménidine	5,9 ± 0,4	107 ± 5,9	149 ± 0,9	4,8 ± 0,2	48,8 ± 1,2
Métoprolol	7 ± 0,7	95 ± 7,3	148 ± 0,5	5,5 ± 0,6	47 ± 0,3

Tableau 2 : Comparaison des paramètres de la fonction rénale entre les groupes en fin de traitement. Elle est effectuée avec une analyse de variance ANOVA, *p<0,05 témoin vs placebo.

Le traitement n'induit pas de modification des concentrations ioniques plasmatiques, comparé au groupe témoin normotendu et au groupe placebo. Par ailleurs, nous observons qu'après 6 semaines de traitement avec la rilménidine, la concentration plasmatique d'urée n'est plus significativement différente de celle du groupe témoin alors que la différence est significative entre les groupes témoin et placebo. Cependant, les valeurs dans les groupes Ril et placebo ne sont pas significativement différentes (tableau 2). Dans le groupe Méto, la concentration de créatinine semble diminuée, mais cette baisse n'est pas significative.

La rilménidine et le métoprolol sont donc bien tolérés dans notre modèle d'insuffisance rénale, ils n'induisent pas d'aggravation de la dysfonction rénale. Nous ne pouvons pas dire que la rilménidine a un effet bénéfique sur la fonction rénale car une baisse d'urée, non accompagnée d'une diminution de la concentration de créatinine, n'est pas un indicateur d'une réduction de l'insuffisance rénale.

5.3. Effets sur le remodelage cardiaque

5.3.1. Analyse échocardiographique

	PP (mm)	Septum (mm)	Masse VG (g)	Masse VG/pds (g/kg)	ERP (%)
Base					
Témoin	1,8 ± 0,1	1,8 ± 0,1	4,9 ± 0,1	2,1 ± 0,04	23 ± 1,3
Placebo	2,7 ± 0,1**	2,6 ± 0,1**	6,1 ± 0,2**	2,7 ± 0,2**	34 ± 1,6*
Rilménidine	2,6 ± 0,3**	2,8 ± 0,3**	6,4 ± 0,3**	2,9 ± 0,1**	33 ± 5,0
Métoprolol	2,6 ± 0,2	2,7 ± 0,1	6 ± 0,6	2,5 ± 0,2	31 ± 2,5
2 semaines					
Témoin	1,8 ± 0,1	1,7 ± 0,1	5,0 ± 0,1	1,7 ± 0,04	22 ± 1,7
Placebo	2,8 ± 0,1**	2,9 ± 0,2**	6,4 ± 0,4	2,4 ± 0,2**§	37 ± 2,5*
Rilménidine	2,5 ± 0,2**	2,5 ± 0,4**	5,9 ± 0,3	2,3 ± 0,1##	31 ± 3,7
Métoprolol	2,7 ± 0,4	2,8 ± 0,3	6,5 ± 1	2,3 ± 0,2	33 ± 5,4
4 semaines					
Témoin	1,8 ± 0,1	1,9 ± 0,2	5,2 ± 0,2	1,6 ± 0,1	22 ± 2,2
Placebo	3,1 ± 0,2**	2,6 ± 0,1**	6,6 ± 0,3**	2,4 ± 0,2**	39 ± 1,7**
Rilménidine	2,6 ± 0,2**	2,5 ± 0,2*	6,1 ± 0,2*	2,2 ± 0,1***##	33 ± 3,0**
Métoprolol	2,4 ± 0,2	2,9 ± 0,2	6,5 ± 0,5	2,3 ± 0,3	28 ± 1,5
6 semaines					
Témoin	2,3 ± 0,1	2,0 ± 0,04	5,7 ± 0,1	1,6 ± 0,04	28 ± 2,3
Placebo	3,3 ± 0,2**§	3,0 ± 0,1**	6,8 ± 0,2**§§	2,3 ± 0,1**	43 ± 3,6*
Rilménidine	2,4 ± 0,2	2,6 ± 0,1**	5,9 ± 0,2	2,0 ± 0,03***##	31 ± 2,2
Métoprolol	2,6 ± 0,2	2,8 ± 0,1	7,3 ± 1	2,4 ± 0,3§	29 ± 1,1

Tableau 3 : Evolution au cours du temps des épaisseurs des parois et de la masse cardiaque dans les 4 groupes (témoin, placebo, Ril, Méto). La comparaison entre les groupes a été réalisée par l'analyse de variance ANOVA avec *p<0,05 et **p<0,01 groupes placebo ou Ril vs témoin à la même période et §p<0,05 et §§p<0,01 groupe placebo ou Méto vs Ril à la même période. La comparaison des différents paramètres en fonction du temps dans le groupe Ril a été réalisée par l'analyse de la variance ANOVA avec ##p<0,01 valeurs de base vs 2, 4 ou 6 semaines.

PP: paroi postérieure ; VG: ventricule gauche ; ERP: épaisseur relative des parois.

L'évaluation de la masse du VG par échocardiographie met en évidence une réduction progressive de ce paramètre dans le groupe traité avec la rilménidine : à 6 semaines, elle baisse de 12 % par rapport à la valeur de base, mais cela n'est pas significatif. Par contre, nous obtenons une baisse significative de ce paramètre lorsqu'il est rapporté au poids de l'animal (tableau 3). Dans le groupe placebo nous observons au contraire une augmentation de la masse du VG au cours du temps. Ainsi, à la fin du traitement, la masse du VG est significativement réduite dans le groupe Ril comparé au groupe placebo, mais cette baisse n'est plus significative lorsque le paramètre est rapporté au poids de l'animal. La réduction de la masse du VG dans le groupe Ril est associée à une diminution de l'épaisseur des parois, les diamètres ventriculaires sont inchangés. Ainsi, après 6 semaines de traitement, il y a une différence significative de l'épaisseur relative des parois entre les groupes placebo et Ril (tableau 3).

Après 6 semaines de traitement, le métoprolol n'induit aucun effet antihypertrophique, et en fin d'étude, la masse du VG est significativement plus grande dans le groupe Méto que dans le groupe Ril (tableau 3).

La figure 6 permet d'illustrer les effets du traitement sur le remodelage et la contractilité du VG en mettant en parallèle une coupe en grand axe du VG, visualisée en mode TM, d'un lapin traité à la rilménidine et d'un lapin non traité, avant et à la fin du traitement.

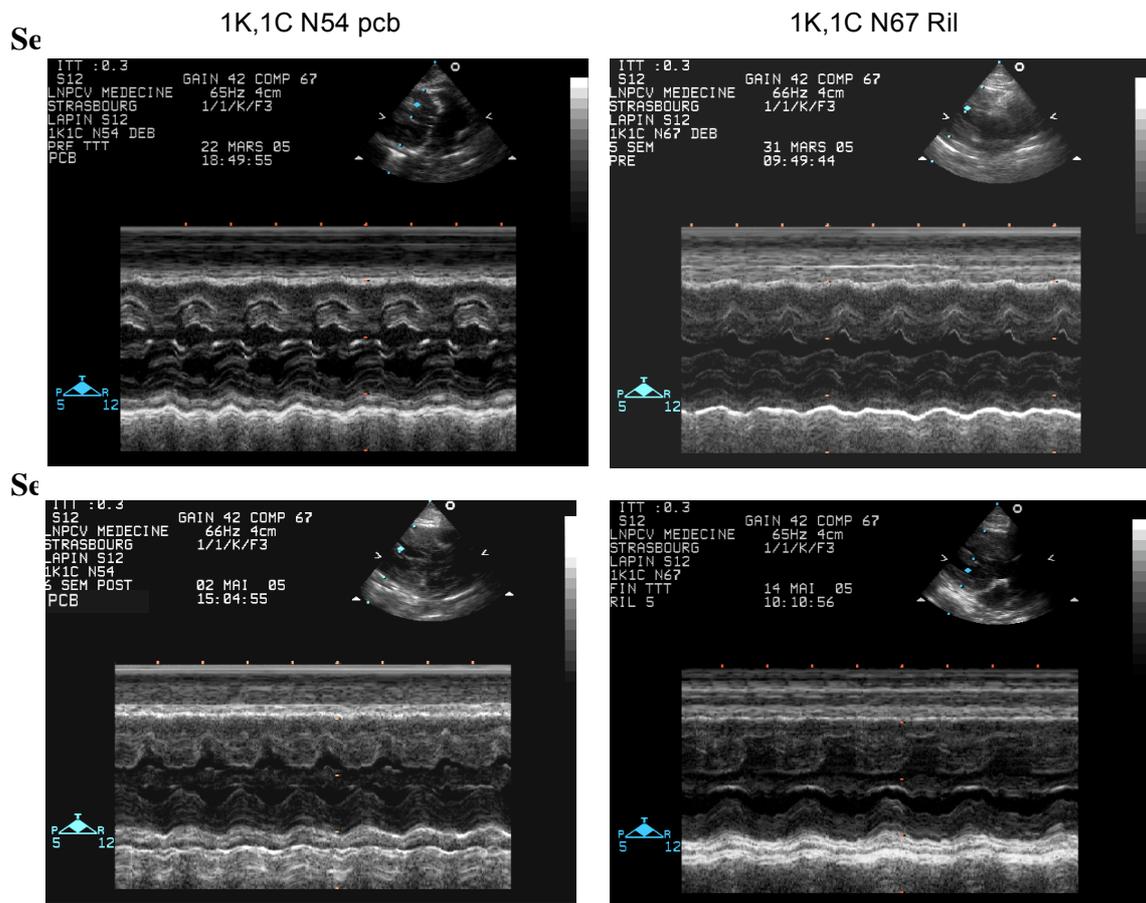


Figure 6 : Coupes échocardiographiques du VG en mode TM grand axe d'un lapin traité avec la rilménidine et d'un lapin non traité (pcb) avant la mise en place du traitement (A), et à la fin du traitement (B).

5.3.2. Etude post-mortem

	Témoin	Placebo	Rilménidine	Métoprolol
Cœur (g)	8,3 ± 0,1	11 ± 0,6**	9,3 ± 0,4*	11,8 ± 1,1§
Cœur/poids (g/kg)	2,4 ± 0,1	3,7 ± 0,2**	3,2 ± 0,2*	3,8 ± 0,3§
VG (g)	5,0 ± 0,2	7,4 ± 0,5**	6,1 ± 0,3*	7,4 ± 0,5§
VG/poids (g/kg)	1,4 ± 0,04	2,5 ± 0,2**	2,1 ± 0,1*	2,4 ± 0,2

Tableau 4 : Comparaison des organes pesés après le sacrifice entre chaque groupe (11 semaines après l'opération) réalisée par le test ANOVA avec *p<0,05 et **p<0,01 groupes témoin vs placebo et groupes témoin vs Ril. Le groupe Méto a uniquement été comparé au groupe Ril §p<0,05 Méto vs Ril.

Nous confirmons la réduction de la masse du VG (18 %) et de la masse rapportée au poids de l'animal (16 %) par la pesée des organes en fin de traitement dans le groupe Ril comparé au

groupe placebo, mais la différence entre ces 2 groupes ne s'est pas révélée significative. Nous n'observons pas de normalisation des valeurs dans le groupe Ril par rapport au groupe témoin, comme cela a été observé avec l'échocardiographie. La différence reste significative entre les 2 valeurs (tableau 5).

La différence de l'effet antihypertrophique entre les groupes Ril et Méto est confirmée par l'analyse morphologique. La masse du VG est significativement réduite dans le groupe Ril comparée au groupe Méto (tableau 5).

La masse des oreillettes est inchangée entre les groupes placebo et Ril et la masse du VD tend à être réduite mais cela n'est pas significatif. Par contre, nous observons une augmentation de la masse des oreillettes dans le groupe Méto comparée au groupe Ril ($3 \pm 0,5$ g vs $2 \pm 0,1$ g, respectivement, $p < 0,05$).

Comme nous l'avons décrit dans le premier chapitre, dans notre modèle, l'HVG est expliquée principalement par une hypertrophie des cardiomyocytes. 6 semaines de traitement avec la rilménidine, induit une réduction de la taille des cardiomyocytes. En effet, la surface des cardiomyocytes est significativement réduite de 23 % chez les lapins du groupe Ril par rapport aux lapins du groupe placebo ($p < 0,0001$) (figures 7A et 7B).

Par ailleurs, la densité de collagène, quantifiée à partir de coupes histologiques colorées au rouge sirius, est comparable entre les trois groupes (figure 7C). D'une part, cela confirme nos résultats du chapitre I : l'absence de fibrose myocardique dans le groupe 1K,1C(HVG) ; d'autre part, la rilménidine n'a aucun effet sur la synthèse de collagène.

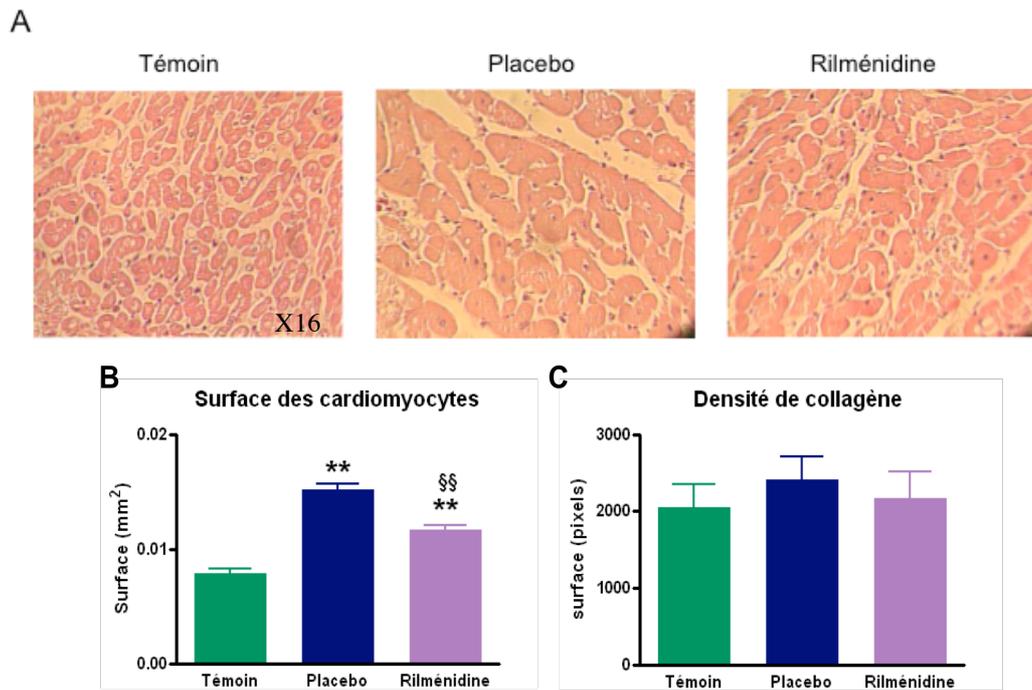


Figure 7 : A. Coupes histologiques de cardiomyocytes du ventricule gauche d'un lapin de chaque groupe. B. Comparaison de la taille des cardiomyocytes. C. Comparaison de la surface du collagène. ** $p < 0,01$ témoin vs placebo ou Ril ; §§ $p < 0,01$ placebo vs Ril

La mesure de la surface musculaire des vaisseaux nous permet de confirmer la présence d'une hypertrophie vasculaire chez les lapins 1K,1C(HVG), décrite dans le premier chapitre. La rilménidine induit une légère réduction de cette hypertrophie (9 %) mais le test de variance ne montre pas de différence significative (elle le devient en ne comparant que les deux groupes 1K,1C(HVG)) (figure 8).

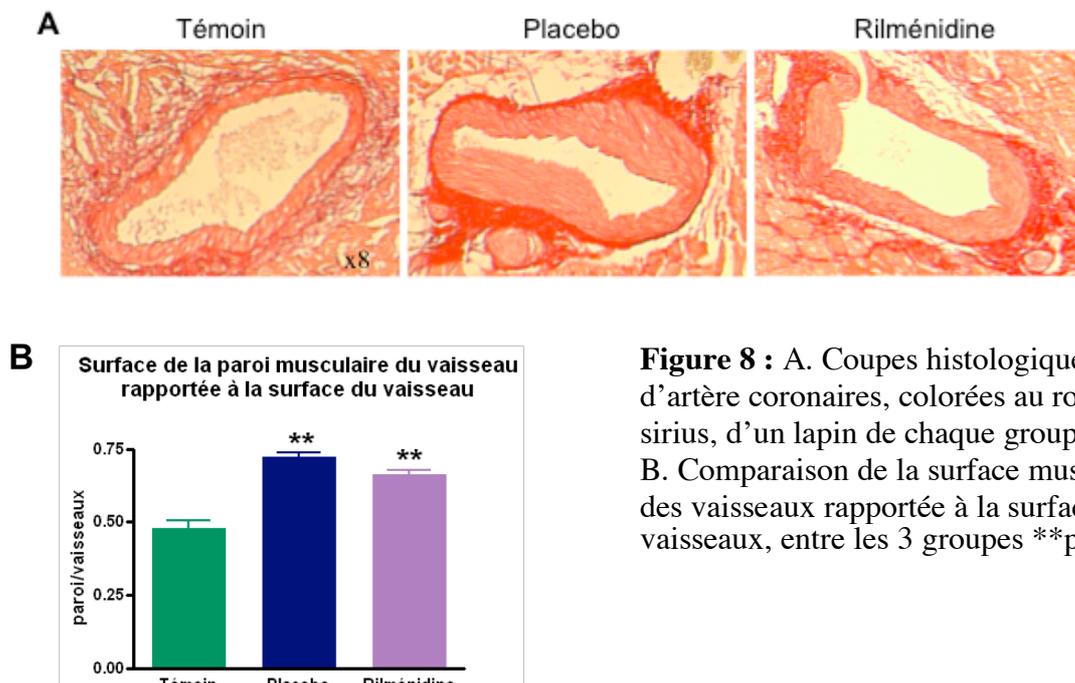


Figure 8 : A. Coupes histologiques d'artère coronaires, colorées au rouge sirius, d'un lapin de chaque groupe. B. Comparaison de la surface musculaire des vaisseaux rapportée à la surface des vaisseaux, entre les 3 groupes ** $p < 0,01$.

5.4. Effets du traitement sur la fonction systolique

5.4.1. Evaluation échocardiographique

	DTD (mm)	DTS (mm)	FE (%)	FR (%)	FRmd (%)	Q (ml/min)
Base						
Témoin	16,4 ± 0,2	10,9 ± 0,1	66 ± 1,1	34 ± 0,8	23 ± 0,7	865 ± 50
Placebo	15,7 ± 0,7	10,3 ± 0,4	67 ± 1,9	34 ± 1,4	22 ± 0,8	818 ± 62
Rilménidine	16,4 ± 0,7	10,7 ± 0,7	67 ± 3,2	35 ± 2,4	21 ± 1,2	830 ± 103
Métoprolol	16,7 ± 0,3	11,4 ± 0,2	63 ± 0,4	32 ± 1,2	19 ± 0,8	798 ± 52
2 semaines						
Témoin	16,5 ± 1,0	11,1 ± 0,6	65 ± 2,2	33 ± 1,6	21 ± 2,5	629 ± 83
Placebo	15,3 ± 0,7	9,7 ± 0,5	71 ± 1,4	37 ± 1,0	22 ± 0,9	939 ± 82
Rilménidine	15,9 ± 0,6	10,4 ± 0,7	66 ± 3	34 ± 2,1	25 ± 3,1	816 ± 98
Métoprolol	16,8 ± 0,6	11,7 ± 0,7	61 ± 3,3	30 ± 2,4	19 ± 1,1	845 ± 70
4 semaines						
Témoin	17 ± 0,7	12 ± 0,7	59 ± 3,8	30 ± 2,4	19 ± 1,8	761 ± 72
Placebo	15,9 ± 0,3	10,3 ± 0,2	69 ± 2,0	35 ± 1,6	22 ± 1,6	941 ± 126
Rilménidine	16 ± 0,5	10,7 ± 0,3	65 ± 1,8	33 ± 1,3	23 ± 1,9	860 ± 71
Métoprolol	17 ± 0,7	11,4 ± 0,3	66 ± 1,5	34 ± 1,2	22 ± 1,4	731 ± 54
6 semaines						
Témoin	16,8 ± 0,4	11,6 ± 0,3	62 ± 1,4	31 ± 1,0	20 ± 1,0	796 ± 86
Placebo	15,6 ± 0,8	9,9 ± 0,8	70 ± 3,2	37 ± 2,8	22 ± 1,7	1013 ± 117
Rilménidine	15,7 ± 0,4	10,6 ± 0,6	66 ± 4,3	33 ± 2,4	22 ± 1,9	767 ± 125
Métoprolol	18,1 ± 0,8 §	12,4 ± 0,7	62 ± 2,4	31 ± 1,6	20 ± 0,7	768 ± 61

Tableau 4 : Evolution de la fonction systolique, au cours du temps, dans les 4 groupes. DTD et DTS = diamètres ventriculaires télé-diastolique et -systolique; FE = fraction d'éjection; FR = fraction de raccourcissement, FRmd = fraction de raccourcissement à mi-paroi, Q = débit cardiaque. §p<0,05 Méto vs Ril.

Après 6 semaines de traitement, la rilménidine n'a aucun effet inotrope négatif (tableau 4). Au cours du temps, nous n'observons aucune réduction des FR et de la FE dans le groupe Ril ; et aucune différence n'est observée entre les groupes. Cependant, nous pouvons souligner une augmentation, non significative, de la FE et la FR dans le groupe placebo au cours du temps,

associée à la réduction du DTD. L'augmentation de la contractilité dans ce groupe peut être expliquée par l'augmentation de l'hypertrophie ventriculaire gauche et par la présence d'une post-charge ventriculaire importante, du fait d'une HTA sévère.

Dans le groupe Méto, après 6 semaines de traitement, nous observons une augmentation significative du DTD comparé au groupe Ril et le DTS est également légèrement augmenté. Une dilatation du VG serait un signe de début de décompensation de la fonction cardiaque chez les lapins ayant reçu du métoprolol, mais les paramètres systoliques sont encore normaux.

5.4.2. Evaluation de la fonction systolique par cathétérisme

Par cette technique, nous avons pu confirmer l'effet bradycardisant de la rilménidine : la FC baisse de 284 ± 6 et de 267 ± 11 bpm pour les groupes placebo et témoin à 230 ± 4 bpm pour le groupe Ril ($p < 0,01$ placebo vs Ril et $p < 0,05$ témoin vs Ril). Nous observons une légère, mais non significative, baisse de la pression systolique passant de 102 ± 19 et 91 ± 9 à 75 ± 12 mmHg dans les groupes placebo témoin et Ril, respectivement. La différence de la valeur minimale de la dérivée première de la pression ventriculaire en fonction du temps (dP/dt_{min}) est inchangée : -2614 ± 357 et -2483 ± 290 mmHg/s dans les groupes placebo et Ril respectivement. La diminution de la valeur maximale de la dérivée première de la pression ventriculaire en fonction du temps (dP/dt_{max}) n'est pas significative : elle est de 3539 ± 357629 mmHg/s dans le groupe placebo et de 2975 ± 629 mmHg/s dans le groupe Ril. Cette légère baisse va dans le sens des résultats que nous avons observé en échocardiographie, dans le groupe placebo, la FE augmente comparativement au groupe Ril. Cette augmentation de contractilité peut être associée à l'aggravation de l'HVG dans le groupe placebo, 6 semaines après le traitement.

Dans le groupe Méto, la dP/dt_{max} et la dP/dt_{min} sont comparables aux valeurs observées dans le groupe Ril ($dP/dt_{max} = 3056 \pm 743$ mmHg/s ; $dP/dt_{min} = -3120 \pm 476$ mmHg/s dans le groupe Méto).

5.5. Effets du traitement sur la fonction diastolique

5.5.1. Evaluation échocardiographique

En comparant le groupe Ril au groupe placebo, dès la deuxième semaine, nous observons une réversion significative du rapport E/A, elle est également observée en suivant l'évolution de ce paramètre en fonction du temps dans le groupe Ril (tableau 5). Cette réversion est maintenue à 4 et 6 semaines. Similairement aux résultats que nous avons montrés dans l'étude en aigu, la baisse du rapport E/A est associée à une réduction significative de l'onde A, à 2 et 6 semaines. Cependant, la réversion du rapport E/A est également associée à une tendance à l'augmentation de l'onde E. La réversion de ce rapport dans le groupe Ril est appuyée par une réversion significative du rapport Ea/Aa dès les premiers 15 jours. Elle est maintenue tout le long du traitement, ceci en comparant les groupes placebo et Ril et en comparant les différents points de mesure dans le groupe Ril. Cette réversion est due (i) à une augmentation de l'onde Ea qui devient significative après 6 semaines de traitement comparée au groupe placebo, mettant en évidence une bonne amélioration du remplissage passif, et (ii) à une réduction de l'onde Aa, après 2 et 4 semaines de traitement, comparé au groupe placebo. A 6 semaines, nous observons une tendance à la baisse du TRIV comparé au groupe placebo, mais en regardant l'évolution de ce paramètre dans le groupe Ril, nous ne voyons aucune réduction, donc nous pouvons supposer que la rilménidine empêche l'aggravation de la dysfonction diastolique.

Au cours du temps, les pressions de remplissage du VG commencent à augmenter dans le groupe placebo car la vitesse de l'onde Ar est augmentée. Mais à ce stade, le paramètre $Dur(Ar-A)$ est encore normal et le rapport S/D est encore supérieur à 1 ($1,1 \pm 0,1$ et $1,2 \pm 0,1$ dans les groupes Ril et placebo, respectivement). La rilménidine agirait sur le flux pulmonaire en empêchant l'augmentation de la vitesse de l'onde Ar. Dans le groupe placebo, l'augmentation des pressions de remplissage peut être associée à une aggravation du trouble de relaxation.

En comparant le groupe traité au groupe témoin, nous pouvons dire que la rilménidine permet une normalisation globale des différents paramètres de la fonction diastolique. En effet, les rapports E/A et Ea/Aa sont identiques dans les 2 groupes, et la vitesse de l'onde Ar n'est pas significativement différente.

Paramètres	E (cm/s)	A (cm/s)	E/A	TRIV (ms)	Ar (cm/s)	dur(Ar-A) (ms)	Ea (cm/s)	Aa (cm/s)	Ea/Aa
Base									
Témoin	54 ± 1,8	41 ± 1,5	1,3 ± 0,1	45 ± 2,5	14 ± 0,7	-13 ± 3,3	6,2 ± 0,2	4,9 ± 0,3	1,3 ± 0,1
Placebo	48 ± 2,9	57 ± 6,1*	0,9 ± 0,1**	54 ± 2,3*	19 ± 1,0*	-6 ± 3,7	5,2 ± 0,5*	5,4 ± 0,5	1,0 ± 0,1
Rilménidine	51 ± 2,8	54 ± 3,4	0,9 ± 0,03**	52 ± 1,6*	17 ± 1,9	-4 ± 2,2	4,4 ± 0,4**	5,0 ± 0,2	0,9 ± 0,1*
Métoprolol	44 ± 5	56 ± 3	0,8 ± 0,1	58 ± 4	19 ± 1,6	-12 ± 2,3§	3,8 ± 0,2	4,2 ± 0,1	0,9 ± 0,1
2 semaines									
Témoin	50 ± 1,2	40 ± 0,9	1,3 ± 0,1	44 ± 3,1	15 ± 1,3	-21 ± 1,5	5,9 ± 0,2	4,7 ± 0,4	1,3 ± 0,1
Placebo	41 ± 1,5	54 ± 4,1*§	0,8 ± 0,1**§	56 ± 1,7*	20 ± 1,1	-13 ± 4,6	4,7 ± 0,2**	6,2 ± 0,6§	0,8 ± 0,1**§§
Rilménidine	47 ± 2,8	41 ± 2,2#	1,2 ± 0,1	56 ± 3*	16 ± 1,4	-9 ± 4	5,3 ± 0,1	4,4 ± 0,3	1,2 ± 0,1
Métoprolol	50 ± 9,6	50 ± 3§	1 ± 0,1	54 ± 4,8	23 ± 5,3	-4 ± 4,1	4,4 ± 0,7	4,8 ± 0,1	0,9 ± 0,1
4 semaines									
Témoin	58 ± 4,3	52 ± 3,8	1,1 ± 0,1	47 ± 1,3	14 ± 0,8	-21 ± 3,6	6,2 ± 0,4	4,9 ± 0,3	1,3 ± 0,1
Placebo	42 ± 2,5**	52 ± 2,7	0,8 ± 0,1	53 ± 1,8	20 ± 2,0	-10 ± 4,2	4,4 ± 0,5**	5,3 ± 0,3	0,9 ± 0,1§
Rilménidine	45 ± 2,1*	43 ± 2,6	1,1 ± 0,1	51 ± 2,6	18 ± 1,7	-14 ± 4,3	5,6 ± 0,3	4,3 ± 0,2	1,3 ± 0,1#
Métoprolol	46 ± 4,9	49 ± 2,5	0,9 ± 0,1	56 ± 3,3	20 ± 2,2	-3 ± 2,5§	5,2 ± 0,4	5 ± 0,1	1 ± 0,1
6 semaines									
Témoin	52 ± 1,9	44 ± 2,9	1,2 ± 0,1	43 ± 0,8	15 ± 0,9	-19 ± 3,5	5,8 ± 0,2	4,4 ± 0,2	1,3 ± 0,1
Placebo	42 ± 3,5	50 ± 3,4	0,8 ± 0,1§	58 ± 2,3**	22 ± 2,1**§	-8 ± 5,6	4,3 ± 0,4*§	4,7 ± 0,4	0,9 ± 0,03**§§
Rilménidine	47 ± 1,8	39 ± 2,8#	1,2 ± 0,05#	51 ± 2,8*	17 ± 0,4	-10 ± 1,3	5,7 ± 0,4	4,5 ± 0,3	1,3 ± 0,1#
Métoprolol	48 ± 8	43 ± 4	1,2 ± 0,2	55 ± 5	19 ± 1,5	-15 ± 4,8	3,8 ± 0,5§	4,4 ± 0,2	0,9 ± 0,1§

Tableau 5 : Evolution des différents paramètres de la fonction diastolique des groupes témoin, placebo, Ril et Méto.

E, A and Ar: vitesse des ondes "early", atriale et atriale Rétrograde; TRIV: temps de relaxation isovolumique; Dur(Ar-A): différence entre les durées des ondes atriale and atriale rétrograde; Ea et Aa vitesse des ondes "early" et atriale au niveau de l'anneau mitral.

*p<0,05 et **p<0,01 groupes placebo ou Ril vs témoin à la même période, §p<0,05 et §§p<0,01 groupes placebo ou Méto vs Ril à la même période, #p<0,05 valeurs à 2, 4 ou 6 semaines vs valeurs de base dans le groupe rilménidine.

Par la figure 9, ci-dessous, nous illustrons l'amélioration du rapport E/A par échocardiographie en montrant l'évolution du flux mitral, au cours du temps, chez un lapin traité avec la rilménidine, comparé à un lapin non traité, aux mêmes temps.

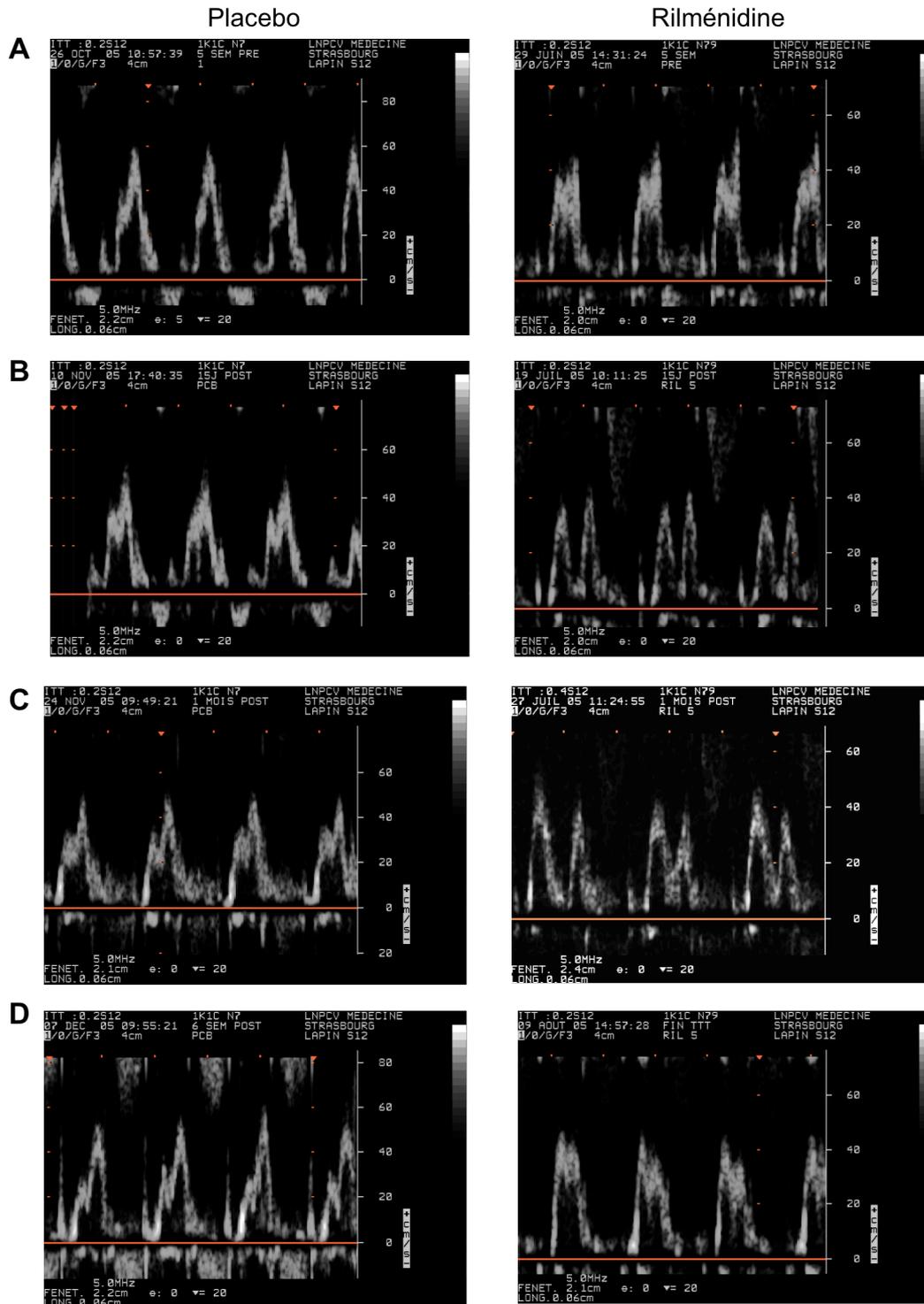


Figure 9 : Evolution au cours du temps du profil mitral chez un lapin traité avec la rilménidine, en la comparant avec un lapin mis sous placebo. A. Avant le traitement. B. 15 jours après le début du traitement. C. 1 mois après le début du traitement. D. 6 semaines après le début du traitement.

Les effets du métoprolol sur la fonction diastolique diffèrent de ceux obtenus avec la rilménidine. En effet, après 6 semaines de traitement ; le métoprolol induit une réversion du rapport E/A, comparable à celle observée avec la rilménidine. Par contre, cet effet n'est pas accompagné d'une réversion du rapport Ea/Aa, ce qui aurait pu confirmer une normalisation de la fonction diastolique. A 6 semaines, la vitesse de l'onde Ea et le rapport Ea/Aa sont significativement plus faibles dans le groupe Méto que dans le groupe Ril ($p \leq 0.05$).

5.5.2. Evaluation par cathétérisme

L'amélioration de la fonction diastolique par la rilménidine semble être confirmée par les résultats que nous avons obtenus avec la mesure invasive des pressions ventriculaires gauches. L'indice de tau est réduit, il passe de 15 ± 2 à 10 ± 1 ms dans les groupes témoin et Ril respectivement ($p < 0,05$), et nous constatons une normalisation de cette valeur par rapport au groupe témoin (10 ± 1 ms).

Une augmentation significative de l'indice de tau dans le groupe Méto, comparé au groupe Ril révèle au contraire, une altération de la relaxation du VG chez les lapins traités avec du métoprolol. ($\tau = 30 \pm 5$ ms dans le groupe Méto, $p < 0,01$).

6. DISCUSSION

Chez les lapins 1K,1C hypertendus, une administration chronique de rilménidine, à la dose de 5 mg/kg/j, induit un léger effet antihypertenseur et une bradycardie significative. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus dans des études cliniques et précliniques (Sadowski et al., 1998 ; Callens-el Amrani et al., 1989). L'effet bradycardisant que nous avons montré n'avait cependant pas été observé chez le lapin normotendu éveillé (Parkin et al., 2003). Cette différence pourrait être expliquée par la présence d'une HVG chez nos lapins. En effet, une étude clinique avait déjà montré un lien entre la réponse bradycardisante et l'hypertrophie cardiaque ; la rilménidine avait un effet bradycardisant plus important chez les patients hypertendus présentant une HVG, que chez les patients sans HVG (Farsang et al. 2003).

Dès les premiers 15 jours de traitement avec la rilménidine, nous observons une réduction progressive de l'épaisseur des parois ventriculaires, et après 6 semaines, la masse du VG est

significativement réduite. La baisse de l'hypertrophie pourrait être expliquée par la faible réduction de la pression artérielle. Cependant, après 2 semaines de traitement, le métoprolol induit un effet hypotenseur comparable à celui de la rilménidine, pourtant, l'épaisseur des parois est alors inchangée. En outre, diverses études ont mis en évidence l'absence de corrélation entre la baisse de pression et la régression de l'HVG (Sadowski et al., 1998 ; Callens-el Amrani et al., 1989). Chez le rat DOCA-sel, un traitement de 7 semaines avec la rilménidine, à la dose de 10 mg/kg/j per os, ne provoque qu'une baisse de PAS de 8 % mais est pourtant accompagnée d'une régression significative de l'HVG (Callens-el Amrani et al., 1989).

Parallèlement à la baisse modérée de la PA, nous démontrons par notre étude histologique, que la régression de l'HVG par la rilménidine, est due à une diminution de la taille des cardiomyocytes. En outre, la rilménidine permettrait une légère réduction de la rigidité vasculaire des artérioles intramyocardiques, par son léger effet anti-hypertrophique des cellules musculaires lisses. La noradrénaline (NA) a montré être un facteur trophique (Colucci, 1998). Il est maintenant bien établi que le développement rapide de l'HVG dans l'hypertension artérielle dépend d'une stimulation équivalente des récepteurs α - et β -adrénergiques (Schobel et al., 1996; Simpson et al., 1991; Zierhut and Zimmer, 1989). Par son action sympatho-inhibitrice, en amont des récepteurs adrénérgiques, la rilménidine aurait donc une action directe sur le tissu cardiaque et vasculaire.

Dans notre modèle, nous avons donc pu montrer que la rilménidine a un effet anti-hypertrophique comparable à ce qui avait été observé dans des études cliniques et pré-cliniques antérieures (Bobik et al., 1998; Sadowski et al., 1998).

La deuxième partie de cette étude, nous a permis pour la première fois d'évaluer l'intérêt potentiel de la rilménidine dans le traitement de la dysfonction diastolique présente dans la cardiopathie hypertensive. La rilménidine induit une amélioration rapide de la phase précoce du remplissage du VG. Les rapports E/A et Ea/Aa sont normalisés. La légère augmentation de la vitesse de E et surtout l'augmentation significative de la vitesse Ea du déplacement de l'anneau mitral (un indicateur de l'état de la relaxation bien plus fiable que E du fait de son indépendance de la précharge) traduisent une amélioration de la compliance. En outre, l'absence d'augmentation du TRIV comparée au groupe placebo et une baisse de l'indice de Tau permettraient de confirmer une amélioration de la relaxation ventriculaire gauche.

Différents facteurs pourraient expliquer ses effets diastoliques.

➤ Une légère baisse de la pression artérielle

Diverses études ont montré que dans l'HTA non traitée, l'altération du remplissage du VG est dépendante de la sévérité de l'HTA (Phillips et al., 1989). Cependant, Alli C et al. ont montré chez les patients hypertendus, que la baisse de la pression par la prazosine n'a aucun effet bénéfique sur la fonction diastolique (Alli et al., 1992). Dans notre étude, l'effet hypotenseur ne semble pas suffisant pour modifier le remplissage ventriculaire : contrairement à la rilménidine, après 2 semaines, l'effet hypotenseur du métoprolol n'est pas associé à une amélioration de la fonction diastolique.

➤ Un effet bradycardisant

La bradycardie permet une augmentation de la durée de la diastole, donc un meilleur remplissage du VG. En plus de leurs effets antihypertrophiques, les β -bloqueurs se sont montrés bénéfiques par leur action bradycardisante. Schobel et al. ont comparé, chez des patients hypertendus, les effets d'un α -bloqueur à ceux d'un β -bloqueur sur la fonction diastolique. Les 2 traitements réduisent la masse du VG mais seul le β -bloqueur, par son action bradycardisante, induit une réelle amélioration du rapport E/A. L' α -bloqueur ne fait que tendre à améliorer la fonction diastolique (Schobel et al., 1996). Cependant, une simple bradycardie ne serait non plus pas suffisante pour améliorer la diastole. En effet, après 6 semaines de traitement avec le métoprolol, la bradycardie observée est associée à une altération de la fonction diastolique, caractérisée par une augmentation de l'indice de tau et l'absence d'une réversion du ratio Ea/Aa. De plus, dans une étude clinique, le blocage des récepteurs α -adrénergiques par la doxazosine, induit, en plus d'un effet anti-hypertrophique, une augmentation du rapport E/A, sans effet bradycardisant (Agabiti-Rosei et al., 1992).

➤ Un effet antihypertrophique

Plusieurs études ont montré un lien entre l'amélioration de la compliance et l'effet antihypertrophique avec des traitements tels que les sartans, les IEC ou encore les β -bloqueurs (Hoffmann et al., 2001; Kobayashi et al., 2004; Wachtell et al., 2002). Néanmoins, un anti-oxydant améliore les paramètres diastoliques sans réduire la masse cardiaque, ni la pression (Matsui et al., 2006). De même, une simple administration de clonidine améliore la diastole

sans réduire l'hypertrophie (Stefanadis et al. 2001). Dans notre étude, tous les lapins traités avec la rilménidine présentent une réduction de la masse ventriculaire, associée à l'amélioration de la fonction diastolique. L'importance de la baisse de la masse du VG serait appuyée par les résultats que nous avons obtenus avec le métoprolol. Dans notre modèle, une baisse de l'hypertrophie semble nécessaire à l'amélioration de la fonction diastolique, car un traitement de 6 semaines avec le métoprolol, à la dose de 30 mg/kg/d, n'a aucun effet sur la masse du VG et nous observons une altération de la relaxation du VG. Ce manque d'effet ne serait pas dû à une dose insuffisante, car nous avons utilisé une dose supérieure à celle déjà utilisée dans d'autres études chez le lapin (Frolov et al., 2001; Sun et al., 1994). En fait, la stimulation des récepteurs β -adrénergiques a un effet lusitrope positif en activant la phosphorylation du phospholamban, augmentant ainsi la recapture du calcium par SERCA durant la diastole (Villars et al., 2004). Une inhibition de cette phosphorylation par le métoprolol, induirait alors un effet lusitrope négatif, qui serait habituellement compensé par ses effets antihypertrophiques et hémodynamiques. Une étude antérieure, réalisée chez le lapin 1K,1C, avait également observé l'absence d'effet antihypertrophique et d'effet hypotenseur d'un traitement curatif avec du pindolol (Cimini et al., 1991). Dans ce modèle expérimental, l'efficacité réduite du β -bloqueur serait expliquée par l'hyperactivité sympathique présente dans ce modèle, qui ciblerait les récepteurs α -adrénergiques dans les tissus vasculaire et cardiaque. Ainsi, la stimulation de ces récepteurs contrecarrerait les effets bénéfiques d'une inhibition des récepteurs β -adrénergiques.

La rilménidine aurait ainsi une action plus large qu'un β -bloqueur, elle permettrait une inhibition globale des effets délétères des catécholamines, et cela serait d'autant plus efficace lors d'une hyperactivité sympathique. Une étude clinique chez des patients hypertendus avait d'ailleurs mis en évidence que les effets bénéfiques d'un β -bloqueur étaient amplifiés en l'associant à un α -bloqueur (Dianzumba et al., 1990). Par ailleurs, l'effet chronotrope négatif de la rilménidine induit par son action sympatho-inhibitrice pourrait également être expliqué par l'activation des RI_1 dans les glomi carotidiens, récepteurs que nous avons décrit dans l'introduction générale (§ 5.3.2.1).

En plus de son effet sympatho-inhibiteur, la rilménidine pourrait agir sur la diastole par un effet auriculaire direct, comme nous l'avons observé dans le chapitre précédent. Dans ce chapitre, nous avons montré que, par la baisse de contractilité de l'OG, une injection unique

de rilménidine altérerait le remplissage du VG. En effet, la vitesse de l'onde A était inférieure à celle observée chez le lapin normotendu et, ni la vitesse de l'onde E, ni le TRIV n'étaient modifiés (le remplissage passif restait altéré). En chronique, nous observons également une réduction de la vitesse de l'onde A donc la rilménidine semble avoir un léger effet inotrope négatif sur l'OG, mais cet effet est insignifiant car la dose que reçoit l'animal en continu est moindre que celle qu'il reçoit lors d'une administration en bolus par voie intraveineuse et l'état de contractilité de l'OG n'est pas altérée chez l'animal hypertendu. De plus, l'effet délétère que pourrait avoir la rilménidine sur la phase active du remplissage serait masqué par son effet bénéfique sur la phase passive du remplissage. Ainsi, un effet inotrope négatif de la rilménidine sur l'OG n'induirait pas d'effet délétère visible lorsqu'elle est administrée de façon chronique, dans notre modèle expérimental d'HTA.

7. CONCLUSION

Ce travail est donc le premier à montrer qu'un traitement chronique avec la rilménidine permet un rapide **effet antihypertrophique** et une nette **amélioration de la fonction diastolique**, dans l'HTA sévère, ceci par ses effets hémodynamiques (**légère hypotension, bradycardie**) et par la suppression des effets délétères des catécholamines. Ce traitement n'induit **aucune altération de la fonction systolique et de la fonction rénale**.

CHAPITRE 4

ETUDES CHRONIQUES CHEZ LES LAPINS INSUFFISANTS CARDIAQUES

1. INTRODUCTION

Tout comme dans l'hypertension artérielle, une hyperactivation sympathique a clairement été mise en évidence dans l'insuffisance cardiaque congestive (ICC). En effet, la concentration de noradrénaline est environ 50% plus élevée chez des patients présentant une ICC que chez des sujets sains (Francis et al., 1990). Cette mesure indirecte a été confirmée par l'enregistrement direct de l'activité sympathique musculaire qui est augmentée chez les malades (Leimbach et al., 1986).

Comme nous l'avons décrit dans l'introduction générale (paragraphe 5.1.3), les β -bloqueurs sont aujourd'hui des traitements de référence dans l'ICC, dans le traitement de l'insuffisance à un stade modérée, jusqu'au stade le plus sévère (études CIBIS I, CIBIS II, MERIT-HF COPERNICUS, CAPRICORNE, COMET...).

Ainsi, les β -bloqueurs s'étant avérés efficaces, nous avons émis l'hypothèse selon laquelle une réduction globale de l'activité sympathique pourrait être bénéfique. Cette hypothèse est d'autant plus intéressante que le carvedilol est à la fois α et β -bloquant, et que dans une étude très récente effectuée dans un modèle de coarctation aortique chez le rat, un α -bloqueur et une sympathectomie chimique ont des effets bénéfiques sur la fonction diastolique et la mortalité (Perlini et al., 2006). Nous avons donc testé les effets d'inhibiteurs sympathiques d'action centrale dans l'ICC.

Comme décrit dans l'introduction générale (paragraphe 5.3.4), les quelques études réalisées avec des inhibiteurs sympathiques centraux sont encore contradictoires, en fonction du produit utilisé. Nous pouvons rappeler, que la clonidine présente divers effets bénéfiques dans l'ICC tels qu'une réduction des troubles du rythme ventriculaire (Zhang et al., 1998), une bonne tolérance en aigu chez des patients présentant une ICC au stade II et III (Azevedo et al., 1999), ou encore, une baisse de la mortalité dans un modèle expérimental d'infarctus du myocarde (Zhang and Cheng, 2000). Cependant, une étude clinique réalisée avec la moxonidine, un antihypertenseur d'action centrale de 2^{ème} génération, a dû être interrompue prématurément du fait d'une augmentation de plus de 50% de la mortalité. En outre, une étude préclinique sur la moxonidine réalisée dans notre laboratoire a globalement montré des effets délétères : une augmentation de la mortalité a été observée dans le groupe traité avec la dose la plus faible de moxonidine testée (Thomas et al., 2004).

Dans cette partie de notre travail nous avons donc voulu : (1) comparer l'ensemble des effets circulatoires de plusieurs inhibiteurs sympathiques centraux avec ceux d'un β -bloqueur et (2) comparer les effets de deux inhibiteurs sympathiques centraux de générations différentes, la clonidine et la rilménidine afin d'essayer expliquer certaines des différences observées dans les études antérieures. Cette étude est d'autant plus intéressante que ces produits ont été comparés dans le même modèle - le lapin 1K,1C(IC) présentant une ICC (décrite dans le Chapitre I) - et dans les mêmes conditions expérimentales. Le β -bloqueur que nous avons retenu est le métoprolol en raison de son efficacité démontrée dans des études précliniques et cliniques (Shimoyama et al., 1996). Nous avons choisi comme inhibiteurs centraux la clonidine (produit de 1^{ère} génération) car elle a montré des effets bénéfiques dans diverses études et la rilménidine (substance de 2^{ème} génération), car elle appartient à la même génération que la moxonidine, néfaste dans l'ICC, et, à ce jour, la rilménidine n'a jamais été étudiée dans l'insuffisance cardiaque.

Pour nous rapprocher le plus possible des études cliniques, nous avons analysé les effets de ces produits en association avec un diurétique. Nous avons choisi le furosémide car c'est le diurétique le plus utilisé chez des patients présentant une ICC. Il permet de réduire la rétention hydro-sodée par son action inhibitrice sur la réabsorption du sodium et du chlore au niveau des sites périphériques des tubules rénaux (Brater, 1998). Le rôle des diurétiques dans l'ICC est de réduire les signes congestifs ou d'empêcher leur réapparition. Il n'existe pas d'étude démontrant un effet de ces médicaments sur la mortalité. Ils doivent être considérés surtout comme un traitement symptomatique. En effet, dans des études à court terme, ils permettent une réduction de la pression veineuse, des signes de congestion pulmonaire, d'ascite et des oedèmes périphériques dès les premiers jours suivant l'instauration du traitement (Patterson et al., 1994; Sherman et al., 1986). Notre modèle présente les divers symptômes cliniques de l'ICC : une augmentation de la précharge avec une forte rétention hydro-sodée. Nous avons donc cherché à réduire la précharge et permettre ainsi une meilleure acceptabilité du traitement. Nous avons associé avec chacun des produits testés des doses identiques de furosémide dans tous les groupes.

Dans cette partie, quatre traitements différents ont donc été évalués de manière chronique, dans le but de tester les intérêts éventuels d'une inhibition sympathique centrale dans le traitement de la dysfonction ventriculaire gauche à un stade avancé.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Protocole d'étude

5 semaines après l'opération, tous nos lapins ont été échocardiographiés. Nous n'avons retenu que ceux ayant développé une insuffisance cardiaque congestive, c'est à dire des lapins 1K,1C(IC) à partir des critères décrits dans le premier chapitre. 4 groupes de lapins ont alors été formés et durant une semaine, l'ensemble des animaux a été traité par du furosémide à la dose de 30 mg/kg/j, administré en monoprise par voie orale.

Après cette semaine de traitement, une échocardiographie a été réalisée chez tous les lapins. Les 4 groupes ont alors continué à recevoir du furosémide à la dose de 15 mg/kg/j par voie orale en monoprise. Ce diurétique a été associé ou non selon le groupe, à un inhibiteur sympathique, administré par minipompe osmotique, jusqu'à la fin du traitement :

- Groupe Furo : furosémide seul (n=8),
- Groupe Furo-Méto : furosémide + métoprolol à la dose de 10 mg/kg/j (dose choisie à partir d'études antérieures : (Kawai et al., 2004; Sun et al., 1994) (n=8),
- Groupe Furo-Ril : furosémide + rilménidine à la dose de 2 mg/kg/j (dose choisie de manière empirique du fait de l'absence d'études antérieures. Nous nous sommes référés à la dose utilisée dans notre étude chronique chez le lapin hypertendu) (n=9),
- Groupe Furo-Clo : furosémide + clonidine à la dose de 100 µg/kg/j (dose choisie à partir d'études antérieures : (Thomas et al., 2004; Zhang and Cheng, 2000) (n=8).

Remarque : nous n'avons pas constitué de groupe non traité, car nous voulions avoir l'effet propre de l'inhibiteur sympathique, et à ce stade de l'ICC, il était impossible de traiter uniquement l'animal avec cet inhibiteur. La réduction de la précharge était nécessaire avant d'instaurer l'inhibiteur sympathique. Notre groupe contrôle a donc reçu du furosémide comme unique traitement.

Durant le traitement, une échocardiographie a été effectuée tous les 15 jours. A la fin du traitement, l'animal a été sacrifié par une dose létale de pentobarbital par voie intra-veineuse, afin de récupérer et de peser le cœur puis, séparément le ventricule gauche (VG) le ventricule droit (VD) et les oreillettes. Ces masses ont été rapportées au poids de l'animal. Une

« tranche » du VG, coupée à la base du plancher atrio-ventriculaire, a été mise dans le formol afin de réaliser les mêmes analyses histologiques que celles décrites dans le chapitre 1.

En début et en fin de traitement, un prélèvement sanguin a été réalisé chez l'animal éveillé, à la veine marginale de l'oreille. Le plasma a été récupéré après une centrifugation à 2500 tr/min pendant 10 min afin de doser les concentrations plasmatiques d'urée, de créatinine, de sodium, de potassium et de protéines totales.

Nous n'avons pas pu suivre l'évolution de la pression artérielle de façon non-invasive au cours du temps car l'artère caudale était fortement contractée, empêchant d'avoir un bon signal par la technique pléthysmographique de la pression à la queue. De plus, nous n'avons pas pu effectuer de mesure des pressions intra-cardiaques car le fort stress, induit lors de l'anesthésie, provoquait trop souvent la mort de l'animal.

La figure 1 est une représentation schématique de notre protocole qui s'apparente aux essais thérapeutiques « add on » :

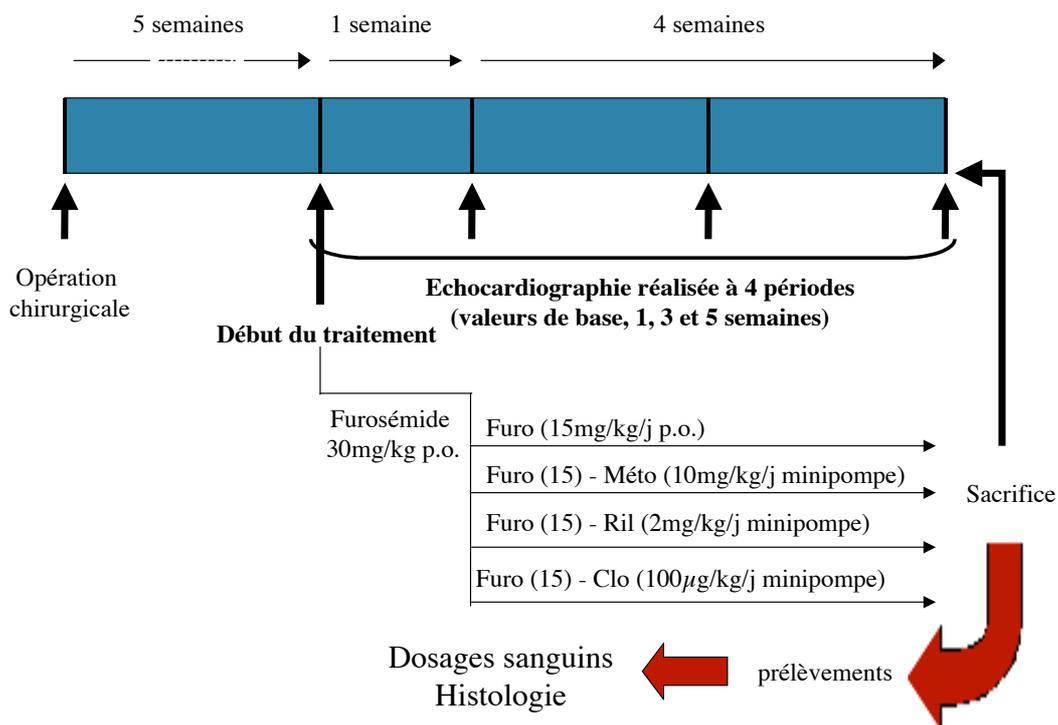


Figure 1 : protocole de l'étude chronique dans le modèle 1K,1C(IC).

2.2. Echocardiographie

Elle a été réalisée selon le protocole décrit dans le chapitre 1.

Par ailleurs, nous n'avons pas toujours pu mesurer le mouvement de l'anneau mitral du côté latéral du fait d'une difficulté à obtenir une bonne fenêtre acoustique. Donc, nous avons analysé que les paramètres obtenus du côté septal.

2.3. Pose des minipompes

La région entre les 2 omoplates a été rasée, désinfectée, puis après une anesthésie locale avec de l'Emla à 5% et de la lidocaïne à 2%, une incision a été réalisée chez l'animal éveillé et une poche formée afin d'introduire la minipompe. Une suture a alors été faite avec du fil résorbable, Vicryl 3/0. Chaque pompe libérant le produit à un débit de 5 μ l/h pendant 2 semaines, a été changée 1 fois afin maintenir le traitement durant 4 semaines.

2.4. Statistiques

Avant le début du traitement, les groupes entiers ont été comparés par le test de variance ANOVA.

En regroupant tous les groupes, l'effet d'une semaine de traitement a été évalué par le test t apparié de Student.

Dans chaque groupe, les valeurs à 1, 3 et 5 semaines ont été comparées aux valeurs de base et les valeurs à 3 et 5 semaines ont été comparées aux valeurs à 1 semaine par le test t apparié de Student.

Les effets de chacun des traitements, calculés en pourcentage, ont été comparés entre les différents groupes par un test non paramétrique : le test de Kruskal-Wallis.

Pour la pesée des organes, les groupes Furo-Méto, Furo-Clo et Furo-Ril ont été comparés au groupe Furo par le test de variance ANOVA, avec le post-test de Dunnett.

Pour le dosage sanguin, les groupes des lapins traités ont été comparés à un groupe de lapin témoin par le test de variance ANOVA, avec le post-test de Dunnett.

Nous avons considéré les valeurs significativement différentes lorsque $p < 0,05$.

3. RESULTATS 1 : VALEURS DE BASE ET APRES UNE SEMAINE DE TRAITEMENT

Paramètres	Furo (n=8)	Furo-Méto (n=8)	Furo-Ril (n=9)	Furo-Clo (n=8)
<u>Echocardiographie 2D (grand axe)</u>				
DTD (mm)	23,5 ± 0,8	22,0 ± 1,1	22,4 ± 0,9	21,6 ± 1,1
DTS (mm)	20,8 ± 0,9	19,6 ± 1,1	19,6 ± 0,9	18,9 ± 1,2
FR (%)	11 ± 1,6	11 ± 0,9	12 ± 1,1	12 ± 1,4
FE (%)	26 ± 3,3	25 ± 2,0	28 ± 2,4	29 ± 2,9
FRmd(%)	8 ± 1,1	7 ± 0,6	9 ± 1,0	7 ± 0,9
Septum (mm)	1,9 ± 0,1	2,0 ± 0,2	1,9 ± 0,1	1,9 ± 0,1
Paroi postérieure (mm)	1,8 ± 0,1	1,8 ± 0,1	1,8 ± 0,1	1,9 ± 0,1
Masse VG (g)	7,2 ± 0,4	6,9 ± 0,5	6,8 ± 0,2	6,4 ± 0,4
Masse VG /pds (g/kg)	3,4 ± 0,2	3,3 ± 0,3	3,0 ± 0,1	3,3 ± 0,1
Epaisseur relative des parois (%)	15 ± 1	17 ± 1,6	16 ± 1,6	18 ± 1,2
FC (bpm)	247 ± 15	274 ± 9	259 ± 9	281 ± 7
Débit cardiaque (ml/min)	364 ± 74	457 ± 80	312 ± 43	556 ± 83
(d) <u>Flux mitral</u>				
Onde E (cm/s)	70 ± 3,6	72 ± 2,6	69 ± 4,2	76 ± 2,4
Onde A (cm/s)	19 ± 4,8	22 ± 4,2	19 ± 3,7	21 ± 5,7
E/A	7,5 ± 2,5	5,8 ± 2,1	5,7 ± 1,4	7,3 ± 2,1
DTE (ms)	31 ± 3,5	32 ± 3,0	29 ± 2,0	33 ± 2,4
Durée A (ms)	24 ± 6,4	31 ± 5,8	28 ± 5,1	27 ± 6,5
TRIV (ms)	51 ± 2,9	44 ± 2,3	48 ± 2,1	46 ± 3,0
<u>Flux veineux Pulmonaire</u>				
Onde S (cm/s)	31 ± 3,1	29 ± 3,8	28 ± 4,7	29 ± 4,9
Onde D (cm/s)	43 ± 2,3	42 ± 5,5	38 ± 3,9	41 ± 5,4
S/D	0,7 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,7 ± 0,1
Onde Ar (cm/s)	19 ± 1,2	23 ± 1,0	22 ± 1,1	21 ± 1,2
Durée Ar (ms)	46 ± 2,5	46 ± 3,7	49 ± 2,0	49 ± 1,9
Durée (Ar-A) (ms)	22 ± 5,3	17 ± 6,1	21 ± 5,4	22 ± 6,7
(e) <u>DTI</u>				
Ea/Aa (septal)	0,7 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,2 ± 0,2	0,9 ± 0,1
E/Ea (septal)	24,4 ± 1,1	19,8 ± 2,0	19,3 ± 2,0	25,4 ± 3,0

Tableau 1 : Valeurs échocardiographiques de base dans les 4 groupes de lapins 1K,1C(IC) traités.

Avant d'instaurer le traitement, les lapins présentaient une IC plus ou moins sévère. En prenant la dyspnée comme un des signes clinique d'ICC décrits dans la classification NYHA,

nous pouvions estimer que nos lapins développaient une IC allant du stade II au stade IV. Du fait de cette variabilité, et de l'impossibilité de faire des sous-groupes, en raison d'effectifs insuffisants, nous avons stratifié les groupes pour les équilibrer. Les valeurs de bases dans les 4 groupes sont donc comparables (tableau 1). Nos animaux présentent une importante dilatation du VG et une hypertrophie excentrique, qui est identifiée par une augmentation de la masse du VG sans modification de l'épaisseur relative des parois. Cette dilatation est associée avec une importante dysfonction systolique ($FE < 35\%$). De plus, les 4 groupes présentent une dysfonction diastolique comparable à ce que nous avons décrit dans le chapitre 1. Nous observons un stade restrictif du flux mitral avec une augmentation des pressions de remplissage du VG.

Après une semaine de furosémide à 30mg/kg/j, en regroupant l'ensemble des animaux ($n=33$), nous observons une amélioration de l'état clinique général des lapins avec une réduction de l'ascite et de la dyspnée. La réduction de l'ascite est confirmée par une perte significative du poids corporel des lapins, il baisse de $2,14 \pm 0,04$ à $2,00 \pm 0,04$ kg ($p=0,01$).

Le traitement tend à améliorer la fonction systolique dans chacun des groupes, mais les écarts types sont alors trop importants pour dévoiler une significativité (figure 2). Par contre, en regroupant tous les animaux, nous montrons un réel effet du furosémide qui est caractérisé par une augmentation significative de la fraction de raccourcissement, elle passe de $12 \pm 0,6$ à $14 \pm 1,1\%$ ($p < 0,05$)

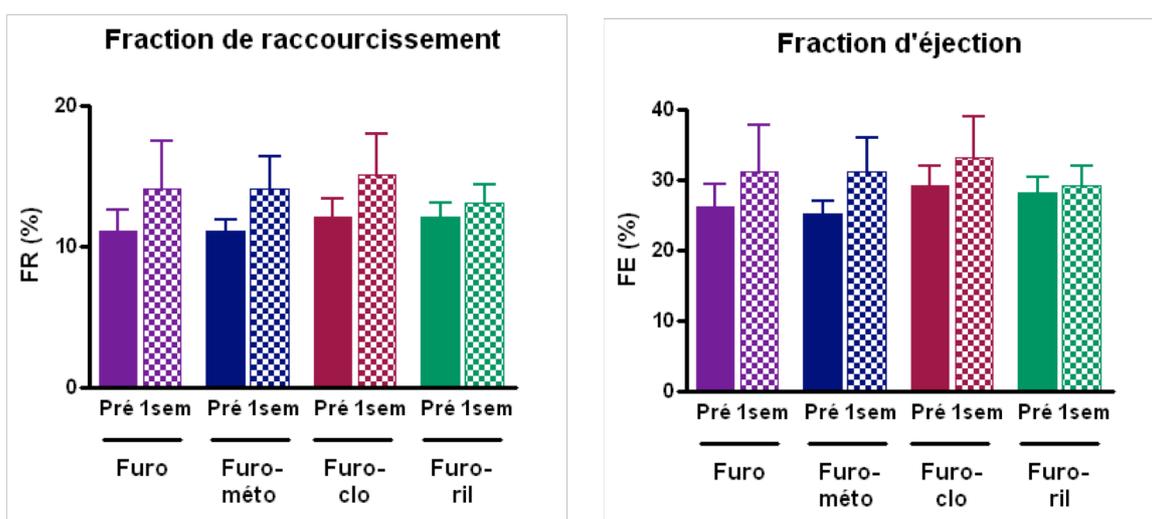


Figure 2 : Effets d'une semaine de traitement par du furosémide (30 mg/kg/j) sur la fonction systolique dans les 4 groupes de lapins traités.

Remarque : dans le groupe Ril, l'augmentation des FE et FR est moindre que dans les autres groupes. Cependant, l'importance des écart-types observée dans les trois autres groupes ne permet pas d'affirmer que l'effet du furosémide dans ce groupe diffère des autres. Nous développerons ce sujet dans la discussion.

Sur l'ensemble des lapins, 1 semaine de traitement avec du furosémide induit une baisse significative de la FC ($p < 0,001$). En séparant les groupes nous retrouvons cet effet bradycardisant, excepté dans le groupe Furo (figure 3).

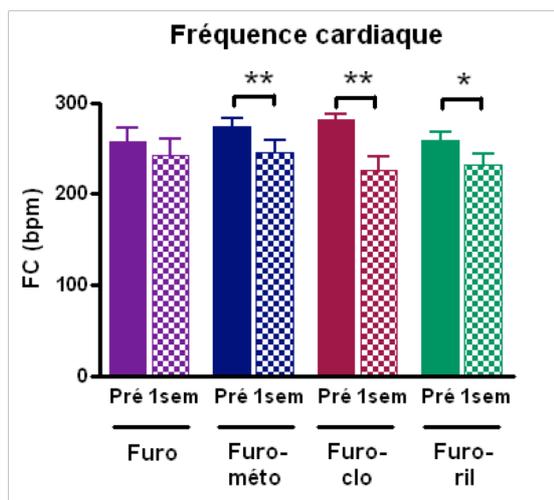


Figure 3 : Effets d'une semaine de traitement avec du furosémide à 30 mg/kg/j sur la fréquence cardiaque dans les 4 groupes de lapins traités. * $p < 0,05$ et ** $p < 0,01$ pré- vs 1 semaine.

Le seul paramètre du flux mitral significativement affecté par le furosémide, est une réduction de la vitesse de l'onde E. Sur l'ensemble des lapins ($n=33$), elle passe de $71 \pm 1,7$ à $60 \pm 2,3$ cm/s ($p=0,0001$). Cette baisse reste significative en séparant les lapins par groupe (figure 4) ; la vitesse de l'onde E est alors comparable entre chaque groupe. Comme cela était attendu, le diurétique a un effet bénéfique sur la phase précoce de la fonction diastolique, il induit une réduction de la précharge par une baisse de la rétention d'eau. Il y a donc une légère réduction des pressions de remplissage du VG.

Par contre, le furosémide n'a pas d'effet significatif sur la phase tardive du flux mitral. Sur l'ensemble des lapins ($n=33$), la vitesse et la durée de l'onde A passent de $20,1 \pm 2,2$ à $22,2 \pm 2,2$ cm/s et de $27,5 \pm 2,8$ à $34,8 \pm 3,2$ ms, respectivement. Les résultats sont équivalents en prenant en considération chaque groupe séparément.

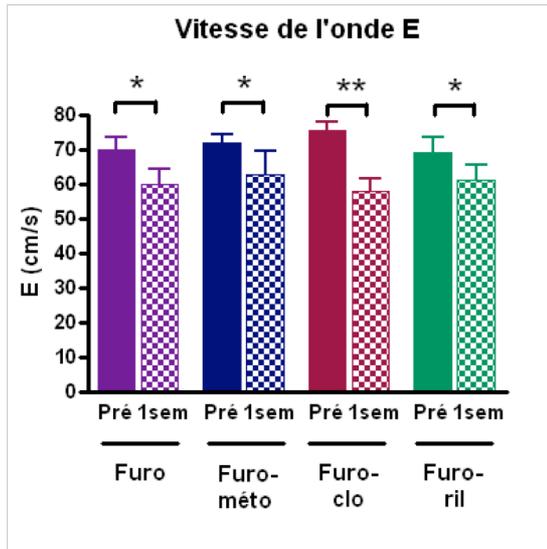


Figure 4 : Effets d'une semaine de traitement avec du furosémide à 30 mg/kg/j sur la vitesse de l'onde E du flux mitral dans les 4 groupes de lapins traités. * $p < 0,05$ et ** $p < 0,01$ pré- vs 1 semaine.

Nous avons effectué nos études avec des groupes homogènes avant le début du traitement.

De plus, sur l'ensemble des lapins le furosémide a eu un effet bénéfique sur la contractilité du VG et améliore la phase précoce du flux mitral en réduisant la précharge. Après une semaine de diurétique, les différents groupes de traitement présentent des caractéristiques similaires, excepté pour la FC qui est inchangée dans le groupe Furo. Les groupes peuvent donc être considérés comme homogènes en terme de réponse au diurétique.

4. RESULTATS 2 : MORTALITE

Après l'ajout ou non d'un l'inhibiteur sympathique dans chacun des groupes, nous avons observé une différence du taux de mortalité entre les groupes (figure 5). Dans la suite de notre travail, afin d'évaluer les effets cardiaques de chaque traitement, nous n'avons considéré que les lapins parvenus au terme du traitement.

Dans les groupes Furo, Furo-Méto et Furo-Clo, nous retrouvons un taux de mortalité de 25 % par groupe. L'effectif de chaque groupe est alors réduit à 6 lapins.

Le groupe Furo-Ril présente un taux de mortalité de 67%, l'effectif est alors réduit à 3 lapins en fin de traitement.

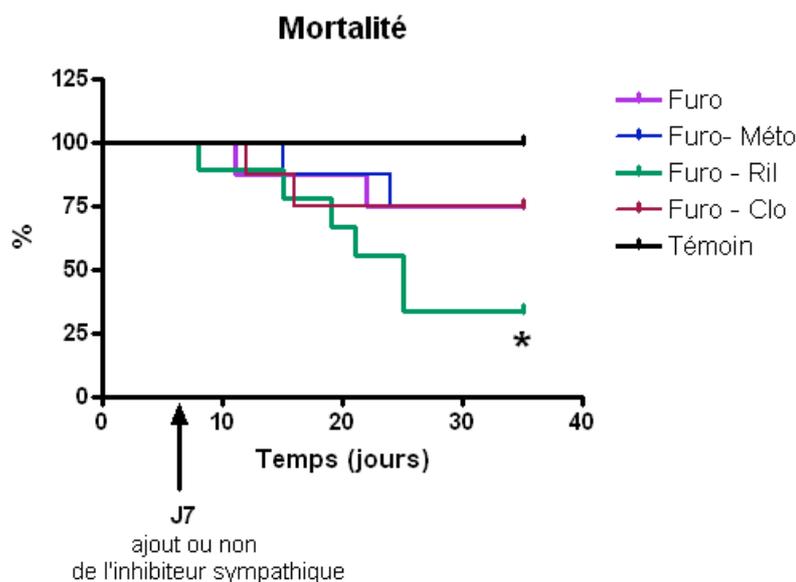


Figure 5 : Comparaison du pourcentage de survie dans chacun des groupes traités avec un groupe de lapins sains. Une différence de proportion de survie significative est observée entre le groupe Témoin et le groupe Furo-Ril (* $p < 0,05$).

Dans les groupes Furo-Méto et Furo-Clo, nous pouvons supposer que l'administration de l'inhibiteur sympathique n'est pas la cause de cette mortalité, car le groupe Furo présente le même pourcentage de décès. Par contre, la rilménidine pourrait être impliquée dans la forte de mortalité observée dans le groupe Furo-Ril.

Dans les parties qui vont suivre, nous avons observé l'évolution des paramètres morphologiques, systoliques et diastoliques au cours du temps, dans chaque groupe de traitement. Puis en fin d'étude nous avons comparé les effets cardiaques de chacun des traitements entre eux.

5. RESULTATS 3 : GROUPE FUROSEMIDE

6 lapins sont parvenus au terme du traitement.

5.1. Effets sur le remodelage

Article III.	Paramètres	Base	1 semaine	3 semaines	5 semaines
DTD (mm)		23,9 ± 1,0	21,3 ± 1,4	22,5 ± 1,5	25,4 ± 1,8
DTS (mm)		21 ± 1,0	18,2 ± 1,9	19,5 ± 2,3	22,5 ± 2,1
PP (mm)		1,9 ± 0,2	2,2 ± 0,2	1,9 ± 0,3	2,0 ± 0,1
Septum (mm)		1,7 ± 0,1	2,1 ± 0,2	2,0 ± 0,2	2,2 ± 0,2
Masse VG (g)		7,3 ± 0,5	7,4 ± 0,7	7 ± 0,3	8,6 ± 0,5**
Masse VG/pds (g/kg)		3,4 ± 0,2	3,5 ± 0,4	2,9 ± 0,2	3,4 ± 0,3
ERP (%)		14 ± 1,0	21 ± 1,9	18 ± 3,7	16 ± 2,6

Tableau 2 : Evolution, au cours du temps, des paramètres morphologiques dans le groupe traité avec du furosémide. Les valeurs à 1, 3 et 5 semaines sont comparées aux valeurs de base par le test t apparié de Student avec **p<0,01.

Au cours du traitement, les diamètres ventriculaires ne sont pas significativement modifiés. Ils ne sont que légèrement augmentés, par rapport aux valeurs de base, à la fin du traitement.

L'absence de modification de l'épaisseur des parois est confirmée par la mesure de l'ERP.

Après 5 semaines de traitement, le seul paramètre significativement modifié est la masse du VG, qui augmente de 18%. Mais lorsque ce paramètre est rapporté au poids de l'animal, la valeur est comparable à celle observée avant traitement. En effet, l'animal prend du poids au cours du traitement. Cela ne semble pas être dû à une augmentation de la rétention d'eau, car nous n'avons pas observé de forte ascite au moment du sacrifice de l'animal. Le traitement a été commencé alors que le lapin n'était pas encore arrivé à l'âge adulte, nous pouvons donc supposer que l'augmentation de la masse du VG peut être expliquée par la croissance normale du lapin au cours du temps (tableau 2).

5.2. Effets sur la fonction systolique

Paramètres	Base	1 semaine	3 semaines	5 semaines
FR (%)	12 ± 2,0	14 ± 3,8	14 ± 4,6	13 ± 3,2
FE (%)	28 ± 4,0	31 ± 7,3	32 ± 9,2	28 ± 6,1
FRmd (%)	9 ± 1,3	10 ± 1,1	9 ± 3,4	9 ± 2,0
Débit cardiaque (ml/min)	350 ± 82	328 ± 113	462 ± 151	386 ± 92
FC (bpm)	247 ± 18	226 ± 26	245 ± 27	237 ± 22
Sa (cm/s)	3,8 ± 0,2	4,2 ± 0,4	4,3 ± 0,3	4,4 ± 0,3

Tableau 3 : Evolution, au cours du temps, de la fonction systolique dans le groupe traité avec du furosémide.

Le traitement au furosémide permet une stabilisation des valeurs de base de la fonction systolique, les FR, FE et FRmd sont maintenues du fait d'une augmentation comparable des diamètres ventriculaires (tableau 3). La vitesse du mouvement de l'anneau mitral durant la systole n'est pas significativement augmentée. La FC, réduite après une semaine de traitement chez les lapins ayant survécus, retourne à une valeur de base dès la 3^{ème} semaine.

La figure ci-dessous permet de montrer, chez un lapin traité avec du furosémide, l'évolution morphologique et l'évolution de la fonction systolique du VG (figure 6).

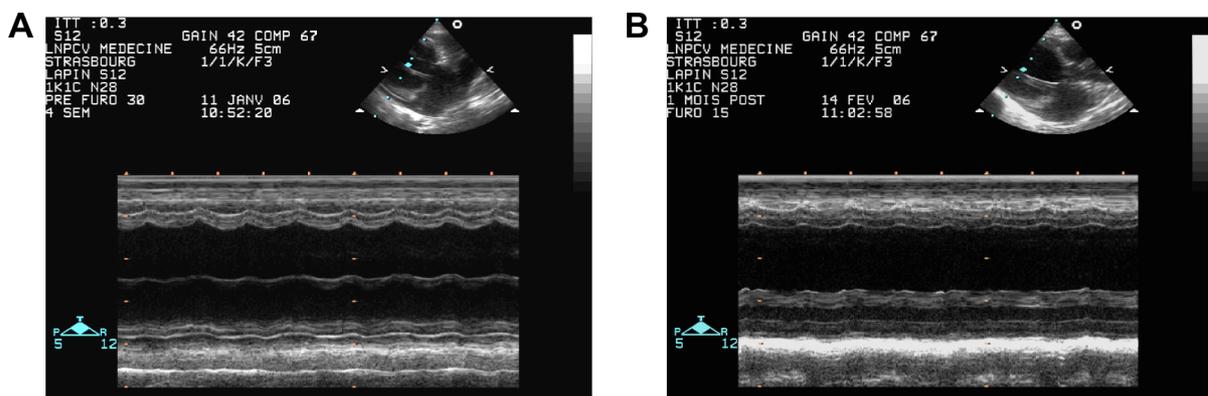


Figure 6 : Coupes échocardiographiques en mode TM d'un lapin traité au furosémide avant le début du traitement (A) et en fin de traitement(B).

Dans ce groupe, les 2 lapins retirés du groupe sont morts entre la première et la troisième semaine du traitement, il n'a donc pas été possible de déterminer si leur décès était dû à une majoration de la dysfonction systolique.

5.3. Effets sur la fonction diastolique

Paramètres	Base	1 semaine	3 semaines	5 semaines
(a) <u>Flux mitral</u>				
Onde E (cm/s)	69 ± 3,7	60 ± 4,9	56 ± 2,0*	56 ± 3,1**
Onde A (cm/s)	21 ± 5,9	17 ± 4,8	24 ± 9,2	23 ± 6,5
E/A	6,7 ± 2,8	6,3 ± 2,5	5,3 ± 2,2	5,1 ± 2,0*
DTE (ms)	27 ± 7,9	42 ± 7,1	39 ± 7,2	30 ± 5,3
Durée A (ms)	30 ± 4,7	30 ± 12,0	36 ± 11,5	32 ± 9,1
TRIV (ms)	49 ± 3,7	53 ± 3,3	55 ± 5,6	51 ± 5,2
<u>Flux veineux Pulmonaire</u>				
Onde S (cm/s)	34 ± 2,0	37 ± 4,0	37 ± 4,2	48 ± 8,7
Onde D (cm/s)	43 ± 2,4	39 ± 2,3	41 ± 4,2	40 ± 1,7
S/D	0,8 ± 0,1	1,0 ± 0,2	0,9 ± 0,1	1,2 ± 0,2
Onde Ar (cm/s)	20 ± 1,5	21 ± 3,9	20 ± 2,0	21 ± 1,3
Durée Ar (ms)	45 ± 2,6	48 ± 5,1	39 ± 1,6	44 ± 2,1
Durée (Ar-A) (ms)	18 ± 6,4	18 ± 13,1	3 ± 13,0	14 ± 10,0
(b) <u>DTI (septal)</u>				
Ea (cm/s)	2,7±0,2	3,3±0,5	3,5±0,5	4,2±0,3*
Aa (cm/s)	4,2±0,6	4,4±0,2	3,6±0,5	3,9±0,3
Ea/Aa	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,1	1,0 ± 0,1*	1,1± 0,2*
E/Ea	25,3 ± 0,8	18,5 ± 0,5*	17,8 ± 3,0*	12,9 ± 1,1**

Tableau 4 : Evolution, au cours du temps, de la fonction diastolique dans le groupe traité avec du furosémide. Les valeurs à 1, 3 et 5 semaines sont comparées aux valeurs de base par le test t apparié de Student avec *p<0,05 et **p<0,01.

La fonction diastolique se sépare en deux phases : une phase précoce et une phase tardive, également appelée phase active. Le furosémide ne semble agir que sur la phase précoce de la diastole. En effet, au cours du temps, nous observons une réduction significative de l'onde E. A la fin du traitement elle est diminuée de 19%, ayant pour conséquence une augmentation

significative du rapport E/A. De plus, l'amélioration de la phase précoce est confirmée par une augmentation progressive de l'onde Ea, engendrant une augmentation significative du rapport Ea/Aa dès la troisième semaine de traitement (tableau 4).

A la dose de 15 mg/kg/j, le furosémide continue de réduire les pressions de remplissage du VG, le rapport E/Ea étant significativement réduit.

Par contre, ce traitement n'a aucun effet bénéfique sur la phase tardive de la fonction diastolique, l'onde A est faible, et la différence des durées des ondes Ar et A est encore élevée. Le remplissage actif reste donc limité du fait, à la fois d'une compliance encore réduite du ventricule gauche, et également de la présence d'une altération de la contractilité de l'oreillette gauche.

Donc le furosémide seul permet un maintien de la contractilité du ventricule à l'état de base et réduit les pressions de remplissage du VG, en diminuant la précharge par son effet diurétique.

6. RESULTATS 4 : GROUPE FUROSEMIDE-METOPROLOL

6.1. Effets sur le remodelage

Paramètres	Base	1 semaine	3 semaines	5 semaines
DTD (mm)	22,8 ± 1,3	22,8 ± 1,4	23,9 ± 1,5	24,2 ± 1,9
DTS (mm)	20,4 ± 1,3	19,6 ± 1,9	20,7 ± 1,9	20,6 ± 2,2
PP (mm)	1,9 ± 0,2	1,8 ± 0,2	2,6 ± 0,2*	2,4 ± 0,2*§§
S (mm)	2,1 ± 0,2	2,0 ± 0,2	2,6 ± 0,2*	2,3 ± 0,1
Masse VG (g)	7,3 ± 0,6	7,0 ± 0,5	9,6 ± 0,9**	8,8 ± 0,6*§§
Masse VG/pds (g/kg)	3,6 ± 0,2	3,4 ± 0,2	4,3 ± 0,4*	3,8 ± 0,2
ERP (%)	17 ± 2,0	16 ± 2,7	22 ± 1,8**	21 ± 4,0*§

Tableau 5 : Evolution, au cours du temps, des paramètres morphologiques dans le groupe traité avec l'association furosémide-métoprolol. Les valeurs à 1, 3 et 5 semaines sont comparées aux valeurs de base par le test t apparié de Student avec *p<0,05 et **p<0,01. De plus, les valeurs à 3 et 5 semaines sont comparées aux valeurs à 1 semaine par le test t apparié de Student avec §p<0,05 et §§p<0,01.

Au cours du traitement, le DTD est augmenté, mais non significativement, cela reflète une augmentation du volume télédiastolique. Cette augmentation aura alors un effet inotrope et lusitrope positif que nous détaillerons avec la suite de nos résultats.

Dès les 15 premiers jours après la mise en place du traitement par le métoprolol, nous observons une augmentation de l'épaisseur des parois, induisant une augmentation de la masse du VG et de l'épaisseur relative des parois (tableau 5). A 5 semaines, ces 2 paramètres sont augmentés de 23 %, mais tout comme dans le groupe Furo, lorsque la masse est rapportée au poids de l'animal, la différence n'est plus significative. L'absence d'ascite à la fin du traitement montre, de façon similaire au groupe précédent, que l'augmentation de la masse du VG serait associée à la croissance de l'animal.

6.2. Effets sur la fonction systolique

Paramètres	Base	1 semaine	3 semaines	5 semaines
FR (%)	11 ± 0,9	15 ± 3,3	14 ± 3,0	16 ± 3,1*
FE (%)	24 ± 2,1	32 ± 6,6	31 ± 5,9	35 ± 6,0*
FRmd (%)	7 ± 0,6	9 ± 2,8	11 ± 1,6*	11 ± 2,1*
Débit cardiaque (ml/min)	482 ± 83	426 ± 89	406 ± 77	416 ± 119
FC (bpm)	270 ± 12	242 ± 18**	199 ± 16**	194 ± 13,2**§
Sa (cm/s)	3,7 ± 0,2	3,8 ± 0,4	3,7 ± 0,2	4,6 ± 0,2

Tableau 6 : Evolution, au cours du temps, de la fonction systolique dans le groupe traité avec du furosémide et du métoprolol. Les valeurs à 1, 3 et 5 semaines sont comparées aux valeurs de base par le test t apparié de Student avec *p<0,05 et **p<0,01. De plus, les valeurs à 3 et 5 semaines sont comparées aux valeurs à 1 semaine par le test t apparié de Student avec §p<0,05 et §§p<0,01.

La fonction systolique s'améliore progressivement (tableau 6 et figure 7). Après 5 semaines traitement, les fractions d'éjection, de raccourcissement et de raccourcissement à mi-paroi sont significativement augmentées de 43, 51 et 46 % respectivement. De plus, la vitesse de l'onde Sa, reflétant le mouvement de l'anneau mitral durant la systole, tend à l'être (p=0,06). Cette amélioration est associée à l'augmentation du DTD. En effet, selon la loi de Starling plus le volume télédiastolique ventriculaire augmente, plus importante sera l'énergie générée par la contraction du ventricule et plus importants seront alors le volume de sang éjecté et la pression générée.

A 3 et 5 semaines, nous observons une bradycardie significative par rapport aux valeurs avant le traitement et après une semaine de furosémide seul. Par rapport à la valeur de base, la FC est réduite de 28%.

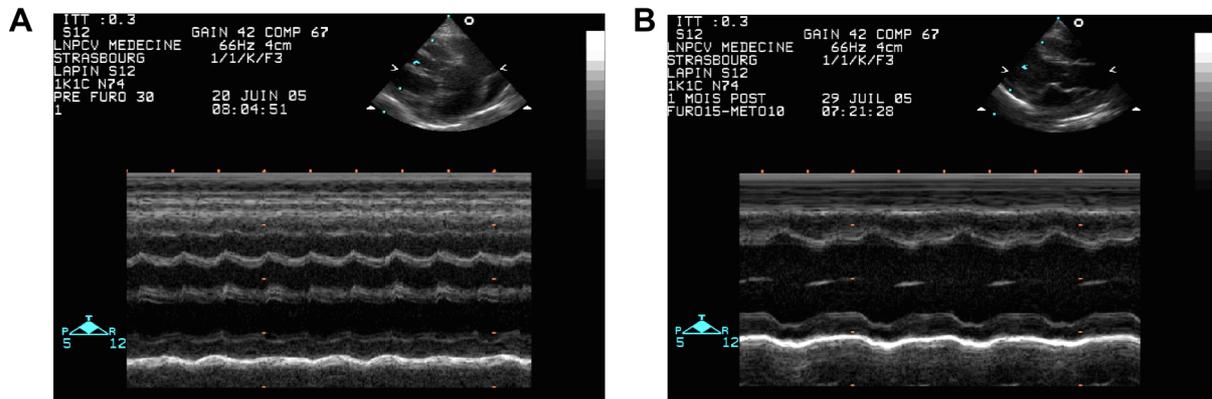


Figure 7 : Coupes échocardiographiques en mode TM d'un lapin traité avec l'association furosémide-métoprolol avant le début du traitement (A) et en fin de traitement (B).

Sur les deux lapins morts durant le traitement, nous n'avons les résultats que d'un seul des deux lapins, étant mort après l'échocardiographie à 3 semaines. L'adjonction du métoprolol ne semble pas être impliqué dans le décès, car nous observons déjà une dégradation de la fonction systolique après une semaine de traitement avec le furosémide à 30 mg/kg/j (tableau 7), il semble avoir été résistant au diurétique.

1K,1C(IC) N18	Base	1 semaine	3 semaines
DTD (mm)	18,2	22,4	23
DTS (mm)	15,2	20	21,4
FR (%)	15	11	7

Tableau 7 : Evolution de la fonction systolique d'un lapin du groupe Furo-Méto décédé avant la fin du traitement.

6.3. Effets sur la fonction diastolique

Paramètres	Base	1 semaine	3 semaines	5 semaines
(c) <u>Flux mitral</u>				
Onde E (cm/s)	69 ± 2,1	58 ± 8,4	61 ± 8,7	57 ± 8,5
Onde A (cm/s)	24 ± 4,7	25 ± 5,2	26 ± 4,1	34 ± 4,4*§
E/A	4,5 ± 1,9	4,4 ± 2,3	2,7 ± 0,5	1,8 ± 0,4
DTE (ms)	33 ± 3,5	30 ± 2,6	36 ± 9	33 ± 6,1
Durée A (ms)	35 ± 6,1	34 ± 7,2	45 ± 8,1	48 ± 5,1*§
TRIV (ms)	46 ± 2,8	54 ± 4,5	51 ± 3,9	56 ± 3,9*
<u>Flux veineux Pulmonaire</u>				
Onde S (cm/s)	26 ± 4,1	36 ± 11,1	30 ± 4,7	32 ± 7,3
Onde D (cm/s)	39 ± 5,1	32 ± 2,9	42 ± 4,1	42 ± 8,3
S/D	0,7 ± 0,1	1 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,9 ± 0,2
Onde Ar (cm/s)	23 ± 1,3	23 ± 2,1	19 ± 1,1*	20 ± 3,1
Durée Ar (ms)	49 ± 4,4	47 ± 3	54 ± 4,6	46 ± 3,5
Durée (Ar-A) (ms)	17 ± 7,6	13 ± 10,3	9 ± 8,1	-1,8 ± 6,2*§
(d) <u>DTI (septal)</u>				
Aa (cm/s)	3,6±0,5	5,6±0,7	3,6±0,1	3,8±0,3
Ea/Aa	1 ± 0,1	0,6 ± 0,01	0,9 ± 0,1	0,8 ± 0,03§
E/Ea	19,2 ± 3,1	18,6 ± 5	18,6 ± 2	14,9 ± 2,4

Tableau 8 : Evolution, au cours du temps, de la fonction diastolique dans le groupe traité par l'association furosémide-métoprolol. Les valeurs à 1, 3 et 5 semaines sont comparées aux valeurs de base par le test t apparié de Student avec *p<0,05 et **p<0,01.

En séparant à nouveau les deux phases de la diastole, nous observons que ce traitement permet une amélioration des deux périodes (tableau 8).

Tout d'abord, selon la loi de Frank, l'augmentation du DTD s'accompagne d'une augmentation de la vitesse de raccourcissement des fibres, d'une force générée plus importante et d'une accélération de la relaxation. La phase de relaxation est alors améliorée.

De façon similaire au groupe Furo, nous observons également une amélioration de la phase précoce de la diastole. La réduction de l'onde E, observée après une semaine de traitement avec le furosémide à 30 mg/kg/j, est maintenue après la mise en place du métoprolol. A 5 semaines, l'onde E est réduite de 18 % par rapport à la valeur de base. Nous retrouvons donc l'effet bénéfique du furosémide sur la précharge. Le rapport E/Ea tend à être réduit, révélant une diminution des pressions de remplissage du VG.

A l'inverse du groupe Furo, l'association du furosémide avec le métoprolol permet une augmentation significative de 42 % et 37 % de la vitesse et de la durée de l'onde A, respectivement, par rapport aux valeurs de base et aux valeurs obtenues après une semaine de traitement avec le furosémide seul. Le rapport E/A tend ainsi à être fortement réduit. De plus, le paramètre combiné Dur(Ar-A) est significativement diminué après 1 mois de traitement avec le métoprolol. Ce résultat met en valeur la réduction des pressions de remplissage et une possible amélioration de la compliance du VG. Donc ce traitement permet une amélioration de la phase tardive du remplissage du VG avec une possible amélioration de la fonction contractile de l'oreillette gauche.

Le furosémide semble donc toujours impliqué dans la réduction de la précharge, mais l'adjonction du métoprolol permet une régression de la dysfonction diastolique en améliorant la phase active du remplissage et la relaxation du VG. Sur l'ensemble du groupe, ce traitement induit une baisse de la sévérité du stade restrictif du flux mitral.

En analysant chaque lapin individuellement, nous constatons que sur les 6 lapins traités tout le long de l'étude, 2 régressent vers le stade I, le stade de trouble primaire de relaxation à pression normale, avec un rapport E/A devenant inférieur à 1 (figure 8) et une amélioration du flux pulmonaire caractérisée par une augmentation de l'onde S révélant une amélioration de la contractilité du VG (figure 9).

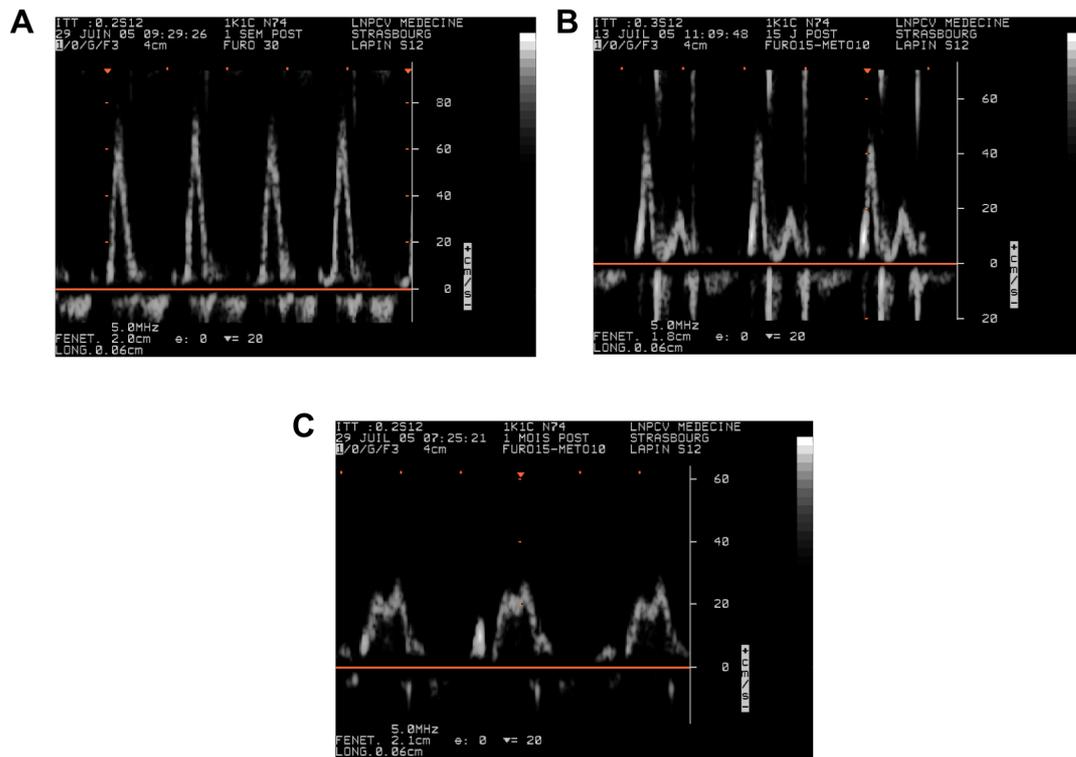


Figure 8 : Evolution du flux mitral par Doppler pulsé chez un lapin traité avec l'association furosémide-métoprolol après une semaine de furosémide (A), 15 jours (B) et 1 mois (C) après l'administration du Métoprolol.

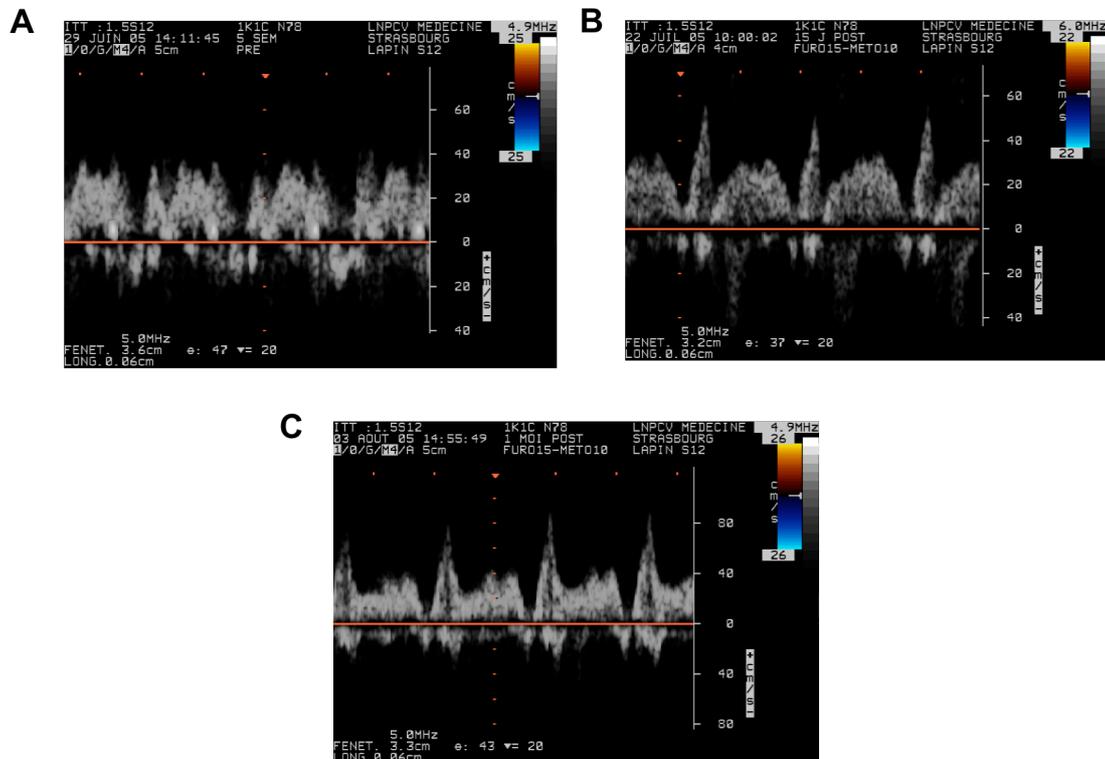


Figure 9 : Evolution du flux pulmonaire par Doppler pulsé chez un lapin traité avec l'association furosémide-métoprolol avant le début du traitement (A), 15 jours (B) et 1 mois (C) après l'administration du métoprolol

7. RESULTATS 5 : GROUPE FUROSEMIDE-CLONIDINE

7.1. Effets sur le remodelage

Paramètres	Base	1 semaine	3 semaines	5 semaines
DTD (mm)	20,8 ± 1,3	20,1 ± 0,6	22,1 ± 1,2	22,2 ± 1,4
DTS (mm)	18,3 ± 1,4	17,4 ± 0,8	18,7 ± 1,6	18,5 ± 2,0
PP (mm)	1,8 ± 0,1	2,0 ± 0,1	1,9 ± 0,1	2,2 ± 0,2*
S (mm)	1,9 ± 0,1	2,0 ± 0,1	2,2 ± 0,2*§	2,3 ± 0,2*§
Masse VG (g)	6,3 ± 0,5	6,3 ± 0,2	7,2 ± 0,3§	7,6 ± 0,3*§§
Masse VG/pds (g/kg)	3,3 ± 0,1	3,4 ± 0,2	3,1 ± 0,2	2,9 ± 0,2*§§
ERP (%)	18 ± 1,3	20 ± 1,5	18 ± 1,9	21 ± 3,2

Tableau 9 : Evolution, au cours du temps, des paramètres morphologiques dans le groupe traité avec le furosémide et la clonidine. Les valeurs à 1, 3 et 5 semaines sont comparées aux valeurs de base par le test t apparié de Student avec *p<0,05. De plus, les valeurs à 3 et 5 semaines sont comparées aux valeurs à 1 semaine par le test t apparié de Student avec §p<0,05 et §§p<0,01.

De façon similaire au groupe Furo-Méto, le DTD tend à augmenter. Les lois Frank et Starling peuvent encore s'appliquer.

Dès les premiers 15 jours de traitement avec la clonidine, l'épaisseur du septum est augmentée et la masse du VG tend à l'être. A la fin du traitement, les parois et la masse du VG sont significativement augmentées d'environ 20% par rapport aux valeurs de base. Mais lorsque la masse est rapportée au poids de l'animal, ce paramètre est au contraire, significativement réduit. Nous pouvons donc penser à un effet antihypertrophique de la clonidine (tableau 9), mais cela reste à vérifier par une comparaison avec le groupe Furo.

7.2. Effets sur la fonction systolique

Paramètres	Base	1 semaine	3 semaines	5 semaines
FR (%)	13 ± 1,9	14 ± 1,9	16 ± 3,3	18 ± 4,6
FE (%)	29 ± 3,9	31 ± 3,8	36 ± 6,2	38 ± 8,3
FRmd (%)	7 ± 1,2	9 ± 1,3	10 ± 1,8*	11 ± 2,6*
Débit cardiaque (ml/min)	600 ± 100	527 ± 90	572 ± 87	626 ± 139
FC (bpm)	280 ± 9,7	226 ± 12**	250 ± 13**	242 ± 13**
Sa (cm/s)	3,4 ± 0,3	3,9 ± 0,2	4,4 ± 0,6*	3,8 ± 0,5

Tableau 10 : Evolution, au cours du temps, de la fonction systolique dans le groupe traité avec le furosémide et la clonidine. Les valeurs à 1, 3 et 5 semaines sont comparées aux valeurs de base par le test t apparié de Student avec *p<0,05 et **p<0,01.

Tout comme dans le groupe Furo-Méto, nous observons une amélioration progressive des FR, FE et FRmd après l'adjonction de la clonidine (tableau 10 et figure 10). Après 5 semaines de traitement, ces paramètres sont augmentés de 38, 31 et 57% respectivement, mais seul le dernier paramètre se révèle significativement différent de la valeur de base du fait des écart-types élevés. Selon la loi de Starling, cet effet inotrope positif peut être associé à l'augmentation du DTD.

La fréquence cardiaque est réduite dès la première semaine, et à l'inverse du groupe Furo, cette baisse est maintenue tout le long du traitement. La FC ne revient pas aux valeurs de base, mais nous observons tout de même un échappement de l'effet bradycardisant, non observé avec le métoprolol. A la fin du traitement, la FC est réduite de 14%.

Remarque : l'augmentation de l'écart-type que nous observons serait expliqué par le fait qu'à la fin du traitement, un des lapins présentait une décompensation cardiaque. Cette dernière pouvant être associée à une augmentation de la FC chez ce lapin, donc à un échappement total de l'effet bradycardisant de la clonidine.

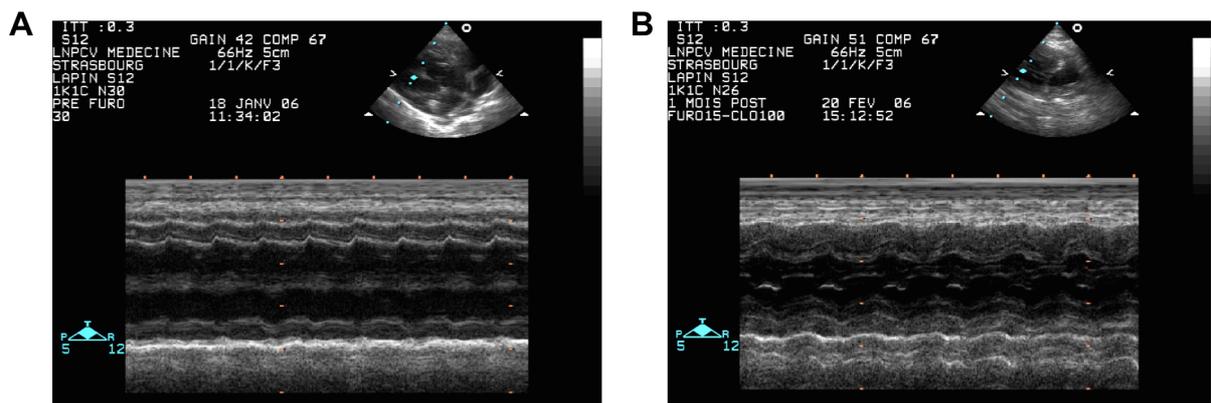


Figure 10 : Coupes échocardiographiques en mode TM d'un lapin traité avec l'association furosémide-clonidine avant le début du traitement (A) et en fin de traitement(B).

Nous ne pouvons pas déterminer si le décès des deux lapins durant le traitement pourrait être expliqué par une majoration de la dysfonction systolique, car les décès ont eu lieu entre la première et la troisième semaine du traitement.

7.3. Effets sur la fonction diastolique

Paramètres	Base	1 semaine	3 semaines	5 semaines
(e) <u>Flux mitral</u>				
Onde E (cm/s)	76 ± 3,2	58 ± 3,1**	60 ± 7,1*	62 ± 7,9*
Onde A (cm/s)	20 ± 6	24 ± 3,8	39 ± 3,6*§	32 ± 7,5
E/A	6,8 ± 2,3	2,8 ± 0,4*	1,6 ± 0,2*§	4,4 ± 2,7
DTE (ms)	31 ± 2,2	38 ± 1,2**	35 ± 3,9	29 ± 3,5
Durée A (ms)	28 ± 7,2	41 ± 5,9**	41 ± 4,2*	38 ± 7
TRIV (ms)	42 ± 2,3	55 ± 2,6*	53 ± 3,7*	48 ± 5
<u>Flux veineux Pulmonaire</u>				
Onde S (cm/s)	31 ± 4,9	38 ± 4,3	31 ± 6,6	28 ± 7,2
Onde D (cm/s)	40 ± 5,4	36 ± 1,4	34 ± 3,1	33 ± 2,4
S/D	0,8 ± 0,1	1 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,8 ± 0,2
Onde Ar (cm/s)	21 ± 1,5	25 ± 4	20 ± 2,1	17 ± 2
Durée Ar (ms)	49 ± 2,5	55 ± 4,6	47 ± 1,9	44 ± 2,3
Durée (Ar-A) (ms)	21 ± 7,2	11 ± 7,3*	6 ± 3**	6 ± 6,7
(f) <u>DTI (septal)</u>				
Ea (cm/s)	3,4±0,4	3,6±0,4	5,5±0,1**	4,7±0,1*
Aa (cm/s)	4,1±0,5	4,3±0,2	4,9±0,4	5,3±0,8
Ea/Aa	0,8 ± 0,1	0,7 ± 0,1	1,1±0,1	0,9±0,1
E/Ea	26,3 ± 3,4	20,5 ± 4,3	10,1±1,2**	9,4±1,7**

Tableau 11 : Evolution, au cours du temps, de la fonction diastolique dans le groupe traité avec le furosémide et la clonidine. Les valeurs à 1, 3 et 5 semaines sont comparées aux valeurs de base par le test t apparié de Student avec *p<0,05 et **p<0,01. De plus, les valeurs à 3 et 5 semaines sont comparées aux valeurs à 1 semaine par le test t apparié de Student avec §p<0,05 et §§p<0,01.

L'augmentation du TRIV met en évidence une amélioration de la relaxation du VG.

Nous observons à nouveau l'effet bénéfique du diurétique sur la phase passive du remplissage ventriculaire gauche. La baisse de la vitesse de l'onde E observée à 1 semaine est maintenue

stable jusqu'à la fin du traitement, E est alors diminuée de 18%. En outre, la vitesse de l'onde Ea est significativement augmentée à 3 et 5 semaines, et la réduction significative du rapport combiné E/Ea met en évidence une réduction des pressions de remplissage du VG (tableau 11).

De façon similaire au métoprolol, la clonidine a un effet bénéfique sur le remplissage actif du VG durant la diastole. En effet, après 2 semaines de traitement avec la clonidine, l'augmentation significative de 95% de la vitesse et de 46% de la durée de l'onde A, l'augmentation de l'onde Aa et la réduction significative de la différence des durées Ar et A, par rapport aux valeurs de base, met en évidence une amélioration de la compli-ance du VG et de la contractilité de l'oreillette gauche (tableau 11 et figures 11 et 12).

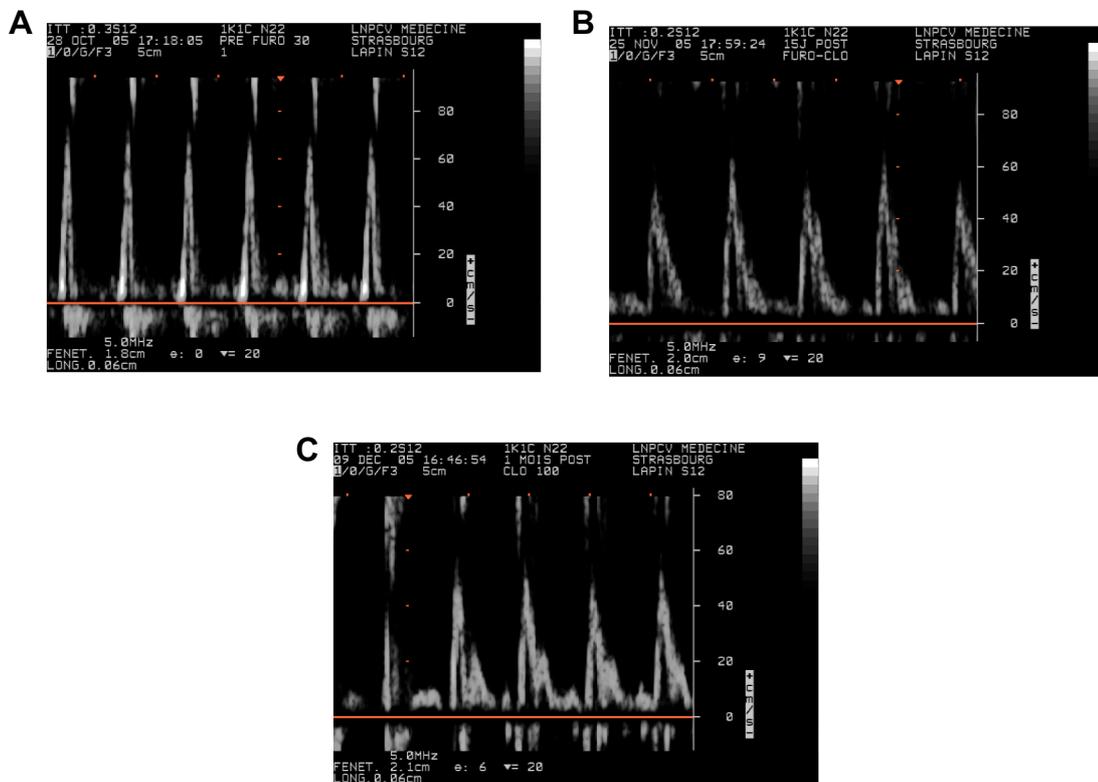


Figure 11 : Evolution du flux mitral par Doppler pulsé chez un lapin traité avec l'association furosémide-clonidine avant le début du traitement (A), 15 jours (B) et 1 mois (C) après l'administration de la clonidine.

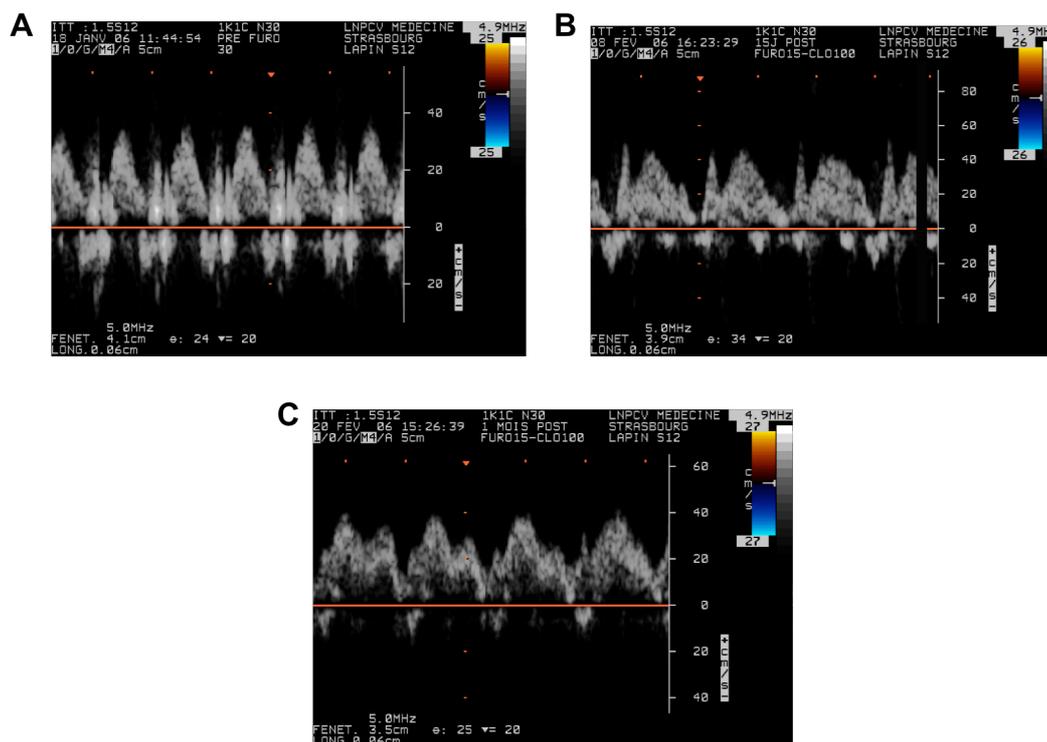


Figure 12 : Evolution du flux pulmonaire par Doppler pulsé chez un lapin traité avec l’association furosémide-clonidine avant le début du traitement (A), 15 jours (B) et 1 mois (C) après l’administration de la clonidine.

Cependant, à la fin du traitement, l’augmentation respective de 60% et de 36% de la vitesse et de la durée de l’onde A n’est plus significative, l’écart-type étant augmenté. De même, le rapport E/A et la différence Dur(Ar-A) ne sont plus significativement réduits. Tout comme cité dans le paragraphe précédent, après une bonne amélioration de la fonction diastolique, un des lapins du groupe décompense entre la 3^{ème} et la 5^{ème} semaine, avec une évolution vers un stade très restrictif.

Ce traitement permet donc une très bonne amélioration globale de la fonction cardiaque. Nous avons observé une augmentation de la contractilité du VG mais également une amélioration de la fonction diastolique. En effet, les pressions de remplissage du VG sont réduites et la compliance ventriculaire et la contractilité de l’OG sont améliorées. Cependant, à l’inverse du

groupe Furo-Méto, nous n'avons pas observé d'amélioration de la fonction diastolique vers un stade I.

8. RESULTATS 6 : GROUPE FUROSEMIDE-RILMENIDINE

Seuls 3 lapins ont survécu jusqu'à la fin du traitement, la majorité des lapins étant morte entre la 2^{ème} et la 4^{ème} semaine après l'ajout de la rilménidine. En effet, après les 15 premiers jours de traitement avec la rilménidine (correspondant donc à la 3^{ème} semaine de traitement), il restait encore 7 lapins parmi lesquels 2 étaient dans un état critique. Dans un premier temps, nous avons regardé l'évolution de différents paramètres chez ces 7 lapins, afin de comprendre les causes possibles de cette forte mortalité.

Paramètres	Base	1 semaine	3 semaines
DTD (mm)	22,6 ± 1,1	22,6 ± 0,5	25,8 ± 0,8**
DTS (mm)	19,9 ± 1,1	19,7 ± 0,8	22,8 ± 0,9**
FR (%)	12 ± 0,7	13 ± 1,6	12 ± 1,2
FE (%)	27 ± 2,0	29 ± 3,2	27 ± 2,5
FC (bpm)	262 ± 11,7	245 ± 8,4	231 ± 14,6*
E (cm/s)	73 ± 4,7	63 ± 4,6	67 ± 5,8
A (cm/s)	16 ± 3,8	16 ± 4,6	16 ± 4,1
Ar (cm/s)	23 ± 1,4	19 ± 1,5	15 ± 0,8*
Aa (cm/s) septal	3,6 ± 0,4	4,3 ± 0,2	3,3 ± 0,2

Tableau 12 : Comparaison de différents paramètres cardiaques obtenus après la 3^{ème} semaine de traitement avec ceux mesurés avant le traitement, en regroupant les lapins ayant survécu jusqu'à cette période (n=7). Comparaison entre les valeurs de base et celles de la 3^{ème} semaine a été faite par le test t apparié de Student avec *p≤0,05 et **p=0,01.

Nous observons une augmentation significative des diamètres ventriculaires télé-diastolique et –systolique. Cette dilatation pourrait signifier un début de décompensation, mais à ce stade, les paramètres de la fonction systolique sont inchangés.

A 3 semaines, la rilménidine a un effet bradycardisant.

Par contre, à 3 semaines, la fonction diastolique semble déjà affectée. L'onde A n'est pas améliorée à l'inverse des groupes Furo-Méto et Furo-Clo, l'onde Aa est réduite alors que dans

le groupe Furo-Clo cette valeur est augmentée, et la baisse de l'onde Ar est significative comparée à la valeur de base (tableau 12).

Après deux semaines de traitement avec la rilménidine, ce groupe (n=7) présente donc déjà une altération de la fonction cardiaque, pouvant alors être une explication de la forte mortalité observée par la suite.

Cependant, nous devons vérifier que la cause de la mortalité n'était pas une fragilité plus importante des lapins dans ce groupe que dans les autres, du fait de la distribution aléatoire des lapins. Dans les 3 paragraphes suivant, nous avons alors regardé si l'évolution de la fonction cardiaque était comparable chez les 3 lapins ayant survécu jusqu'à la fin du traitement, ou si au contraire, elle était améliorée comme dans les autres groupes.

Une évaluation des effets d'un traitement de 4 semaines avec la rilménidine, nous a aussi permis d'effectuer une comparaison entre les différents groupes en fin de traitement (paragraphe 9).

8.1. Effets sur le remodelage

Paramètres	Base	1 semaine	3 semaines	5 semaines
DTD (mm)	21,6 ± 1,1	22,2 ± 0,6	24,3 ± 0,6	25,1 ± 0,3*
DTS (mm)	18,6 ± 1,0	19,1 ± 1,0	20,8 ± 0,5	23 ± 0,4
PP (mm)	1,7 ± 0,2	2,0 ± 0,04	2,2 ± 0,3	2,3 ± 0,2
S (mm)	1,9 ± 0,1	2,1 ± 0,1	2,4 ± 0,1	2,0 ± 0,2
Masse VG (g)	6,4 ± 0,1	7,2 ± 0,3*	8,7 ± 0,2*	8,7 ± 0,4**
Masse VG/pds (g/kg)	3,1 ± 0,1	3,6 ± 0,1	4,2 ± 0,2*	3,7 ± 0,1
ERP (%)	17 ± 2,6	18 ± 0,5	19 ± 2,9	19 ± 1,5

Tableau 13 : Evolution, au cours du temps, des paramètres morphologiques dans le groupe traité avec le furosémide et la rilménidine (n=3). Les valeurs à 1, 3 et 5 semaines sont comparées au valeurs de base par le test t apparié de Student avec *p<0,05 et **p<0,01.

Nous retrouvons, chez ces 3 lapins, une augmentation des diamètres ventriculaires. Les DTD et DTS sont en effet amplifiés de 16 et 23% respectivement. Cette augmentation semblerait expliquer l'augmentation de la masse du VG, l'épaisseur relative des parois étant inchangée (tableau 13).

8.2. Effets sur la fonction systolique

Paramètres	Base	1 semaine	3 semaines	5 semaines
FR (%)	13 ± 0,6	14 ± 2,0	14 ± 1,0	9 ± 2,5
FE (%)	31 ± 1,2	31 ± 4,0	32 ± 1,9	20 ± 5,7
FRmd (%)	9 ± 0,8	9 ± 0,7	10 ± 0,8	6 ± 1,5
Débit cardiaque (ml/min)	351 ± 70	489 ± 85	443 ± 89	510 ± 17
FC (bpm)	258 ± 16	236 ± 12	212 ± 20	244 ± 25
Sa (cm/s)	5,0 ± 0,4	4,0 ± 0,3	4,2 ± 0,1	4,0 ± 0,7

Tableau 14 : Evolution, au cours du temps, de la fonction systolique dans le groupe traité avec le furosémide et la rilménidine.

Après 5 semaines de traitement, l'augmentation des diamètres ventriculaires s'accompagne d'une réduction de 31, 35 et 33% des FR, FE et FRmd, respectivement (tableau 14). En effet, en se référant à la courbe pression-volume, une augmentation du DTS, induit une baisse de la pente d'inotropisme qui reflète une diminution de la contractilité du VG. L'association Furo-Ril provoque donc une chute de la contractilité ventriculaire (figure 13).

Aucun effet bradycardisant significatif n'a été observé, tout au plus, une tendance en début de traitement.

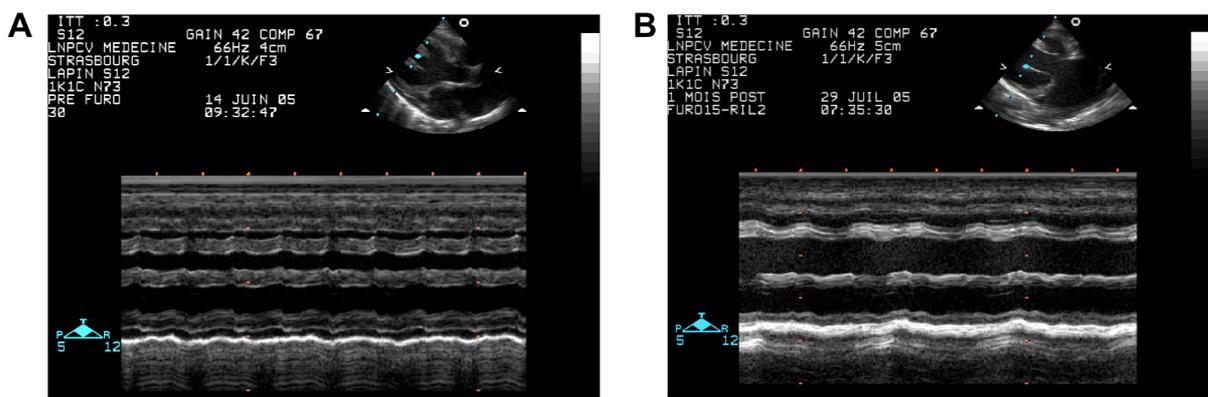


Figure 13 : Coupes échocardiographiques en mode TM d'un lapin traité avec l'association Furo-Ril avant le début du traitement (A) et en fin de traitement (B).

8.3. Effets sur la fonction diastolique

Paramètres	Base	1 semaine	3 semaines	5 semaines
(g) <u>Flux mitral</u>				
Onde E (cm/s)	78 ± 4.6	62 ± 4**	62 ± 5.9**	66 ± 8.9*
Onde A (cm/s)	24 ± 2,8	19 ± 5,0	18 ± 4.4	15 ± 5.2
E/A	3 ± 0.3	4,8 ± 1,1	6.7 ± 3	7.4 ± 4.6
DTE (ms)	28 ± 0.6	27 ± 1.3	31 ± 2.5	30 ± 0.6
Durée A (ms)	31 ± 2.8	25 ± 5,0	35 ± 9.7	28 ± 11.4
TRIV (ms)	45 ± 1.5	60 ± 3.7	47 ± 3.4	54 ± 3*
Section 3.02 <u>Flux veineux Pulmonaire</u>				
Onde S (cm/s)	37 ± 6.5	31 ± 0.7	26 ± 3.3	30 ± 10.3
Onde D (cm/s)	40 ± 5.9	37 ± 0.9	34 ± 2.4	41 ± 3
S/D	0.9 ± 0.04	0.8 ± 0.04	0.8 ± 0.1	0.7 ± 0.2
Onde Ar (cm/s)	22 ± 0.7	22 ± 0.7	15 ± 0.7*	15 ± 1.6*
Durée Ar (ms)	49 ± 0.2	54 ± 2.7	45 ± 2.7	42 ± 1.2*
Durée (Ar-A) (ms)	14 ± 2.9	30 ± 8.8	10 ± 10.8	20 ± 12,0

Tableau 15 : Evolution, au cours du temps, de la fonction diastolique dans le groupe traité avec le furosémide et la rilménidine. Les valeurs à 1, 3 et 5 semaines sont comparées aux valeurs de base par le test t apparié de Student avec *p<0,05 et **p<0,01.

Nous observons un profil totalement différent de celui obtenu avec les autres traitements (tableau 15 et figure 14). A la fin du traitement, la vitesse de l'onde A tend à être diminuée de 42% et celle de l'onde Ar l'est significativement de 32%. De plus, la durée de l'onde Ar est significativement réduite de 14%. La baisse de l'onde A n'est pas expliquée par une augmentation des pressions de remplissage du VG. En effet, la vitesse de l'onde E est réduite durant tout le traitement, du fait de l'administration du furosémide, et la différence des durées des ondes Ar et A est inchangée. La rilménidine semblerait avoir un effet inotrope négatif, donc néfaste, sur la contractilité de l'OG. Nous n'avons pas pu présenter les valeurs du DTI car elles ne sont pas exploitables.

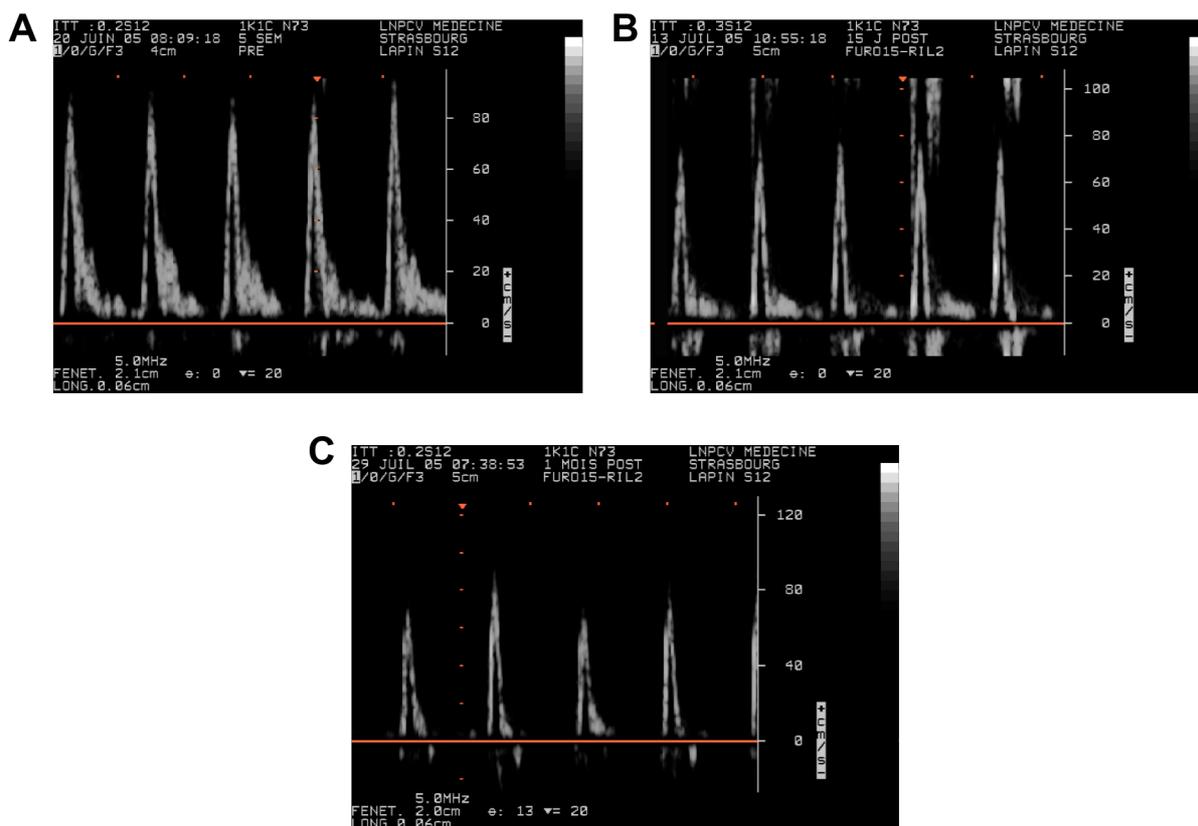


Figure 14 : Evolution du flux mitral par Doppler pulsé chez un lapin traité avec l’association Furo-Ril avant le début du traitement (A), 15 jours (B) et 1 mois (C) après l’administration de la rilménidine.

La forte mortalité observée dans ce groupe ne semblerait donc pas due à une différence de l’état physique de base de ce groupe par rapport aux autres groupes. En effet, la fonction cardiaque se dégrade au cours du temps chez les 3 lapins alors que les valeurs de bases sont comparables à celles des autres groupes. Le profil observé est similaire à celui des 7 lapins, après 2 semaines de traitement avec la rilménidine (tableau 12), et continue de s’aggraver en fin de traitement.

9. RESULTATS 7 : COMPARAISON ENTRE LES GROUPES

Après avoir décrit l'évolution de la fonction cardiaque des différents groupes, nous avons comparé les effets propres des différents traitements entre eux. Nous avons pour cela présenté la modification des différents paramètres entre les valeurs de base et celles mesurés à la fin du traitement, sous forme de pourcentage.

9.1. Evaluation de la fonction cardiaque

9.1.1. Fonction systolique

Le métoprolol et la clonidine permettent une nette amélioration de la fonction systolique. En effet, la FR est significativement augmentée dans les groupes Furo-Méto et Furo-Clo comparée à celle du groupe Furo. Au contraire, la baisse significative de la FR dans le groupe Furo-Ril comparé à celle du groupe Furo, met en évidence l'effet néfaste de la rilménidine sur la contractilité du VG. Les effets de la rilménidine sont ainsi opposés à ceux des deux autres inhibiteurs sympathiques (Figure 15A).

Le métoprolol et la clonidine induisent une bradycardie significative comparée à celle des groupes Furo et Furo-Ril. La possibilité d'un phénomène d'échappement de l'effet bradycardisant dans le groupe Furo-Clo pourrait être une explication de l'effet moindre de la clonidine comparé au métoprolol. Dans les groupes Furo et Furo-Ril, la FC est réduite de moins de 10%. (figure 15B).

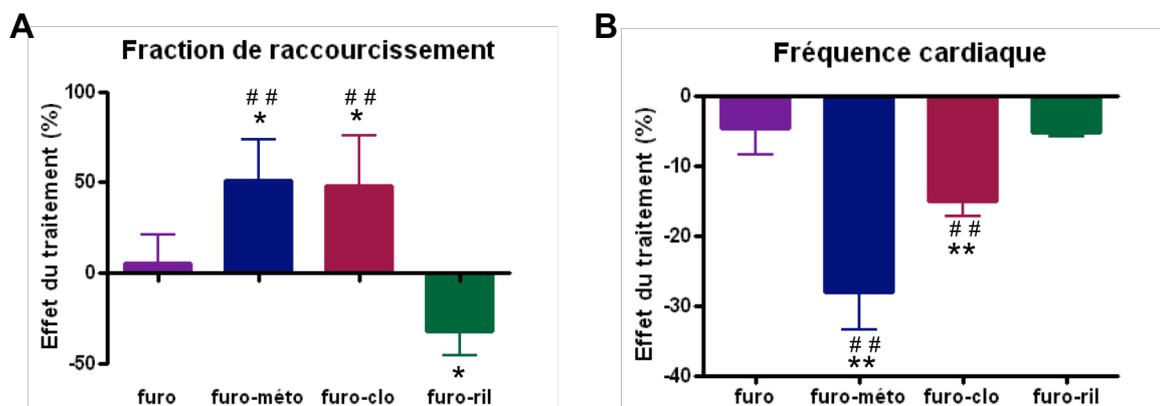


Figure 15 : Comparaison des effets des traitements dans les différents groupes sur la fonction systolique, par le test de Kruskal-Wallis : (A) fraction de raccourcissement et (B) fréquence cardiaque. * $p < 0,05$ et ** $p < 0,01$ vs groupe Furo ; ## $p < 0,01$ vs groupe Furo-Ril.

9.1.2. Fonction diastolique

L'effet bénéfique des traitements sur la phase précoce du remplissage du VG serait dû exclusivement à l'administration du furosémide (figure 16A). La réduction de la vitesse de l'onde E, est similaire entre les groupes ayant reçu un inhibiteur sympathique et le groupe Furo. Le diurétique diminue la rétention d'eau induisant une baisse de la précharge, et donc une réduction des pressions de remplissage.

L'amélioration de la phase active du remplissage du VG observée dans les groupes Furo-Méto et Furo-Clo, est due à l'adjonction de l'inhibiteur sympathique. La vitesse de l'onde A est augmentée dans les groupes Furo-Méto et Furo-Clo par rapport au groupe Furo (figure 16B), l'augmentation n'étant significative que dans le groupe Furo-Clo. De plus, la durée de l'onde A tend à être augmentée et la vitesse de l'onde Ar est légèrement réduite (figures 16C et D).

La rilménidine a un effet significativement différent de celui de la clonidine. La vitesse de l'onde A est significativement réduite comparée à la vitesse de l'onde A du groupe Furo-Clo. Cette baisse n'est pas observée avec le furosémide seul ; la rilménidine semble donc responsable de l'altération de la phase active du remplissage du VG. Une baisse de la contractilité de l'OG par la rilménidine serait confirmée par une réduction de la vitesse de l'onde Ar (figures 16B et D).

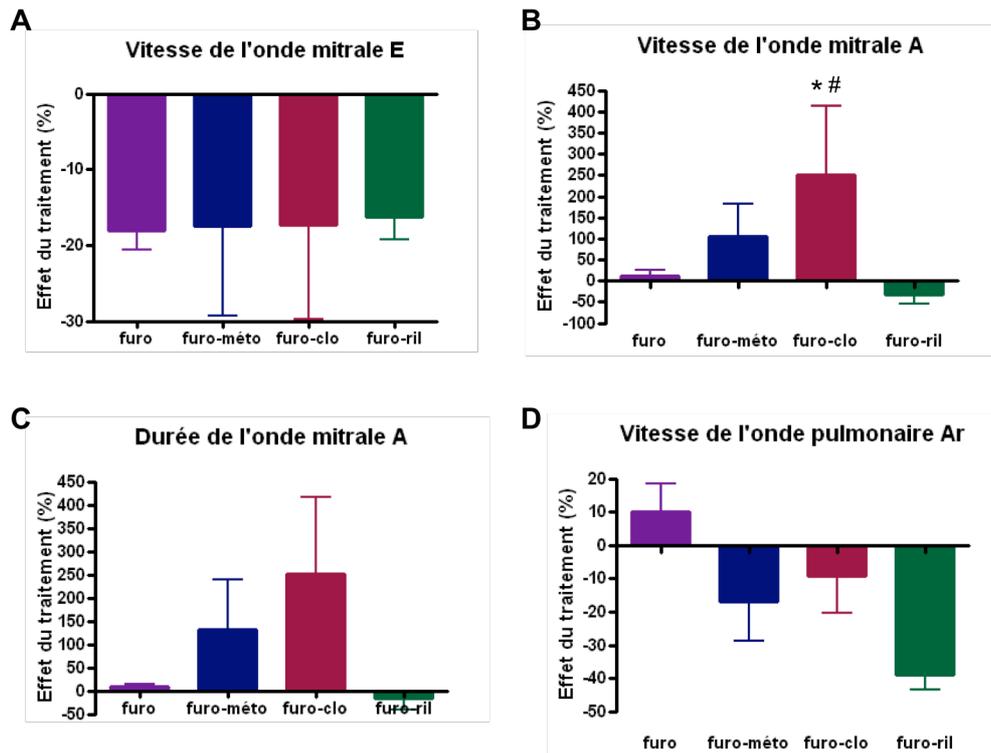


Figure 16 : Comparaison entre les groupes des effets du traitement sur la fonction diastolique par le test de Kruskal-Wallis : vitesse de l'onde E (A), vitesse (B) et durée (C) de l'onde A, et vitesse de l'onde Ar (D). * $p < 0,05$ vs groupe Furo ; # $p < 0,05$ vs groupe Furo-Ril.

9.2. Remodelage cardiaque observé en fin de traitement

Une étude post-mortem nous a permis de comparer le poids des différents organes dans groupes traités avec un inhibiteur sympathique par rapport au groupe Furo (tableau 16).

	Furo (n=6)	Furo-Méto (n=6)	Furo-Clo (n=6)	Furo-Ril (n=3)
Poids corporel (kg)	2,6 ± 0,2	2,3 ± 0,2	2,6 ± 0,1	2,3 ± 0,1
VG/pds (g/kg)	3,1 ± 0,3	3,2 ± 0,3	3,4 ± 0,2	3,6 ± 0,4
Oreillettes/pds (g/kg)	1,0 ± 0,2	1,7 ± 0,3	1,6 ± 0,3	1,4 ± 0,3
Poumons/pds (g/kg)	4,3 ± 0,5	5,6 ± 1	5,2 ± 0,8	5,2 ± 0,9
Rein/pds (g/kg)	5,6 ± 0,4	6,5 ± 0,8	5,9 ± 0,2	6 ± 0,3

Tableau 16 : Pesée des différents organes dans chaque groupe à la fin du traitement.

Rapporté au poids de l'animal, le poids du VG dans les groupes traités avec un inhibiteur sympathique ne diffère pas significativement de celui du groupe Furo. Les inhibiteurs sympathiques n'ont donc pas d'effet antihypertrophique propre. Nous confirmons cela dans les groupes Furo-Méto et Furo-Clo, en mesurant la surface des cardiomyocytes. En effet, la surface n'est pas significativement différente de celle mesurée dans le groupe Furo. Par contre, elle est significativement plus faible dans le groupe Furo-Ril que dans le groupe Furo et Furo-Méto, alors que le poids du VG tend au contraire à être augmenté dans le groupe Furo-Ril (figure 17). Ces résultats pourraient révéler une augmentation de l'hypertrophie excentrique dans le groupe Furo-Ril, allant dans le sens d'une aggravation de la dysfonction systolique. L'augmentation de la masse du VG serait due à une augmentation de la longueur des cardiomyocytes (sarcomères en série), donc sur la coupe histologique, la surface des cellules, coupées transversalement, serait réduite du fait de l'étirement des cellules.

Le poids des oreillettes est plus important dans les groupes Furo-Méto et Furo-Clo, comparé au groupe Furo, mais cette différence n'est pas significative.

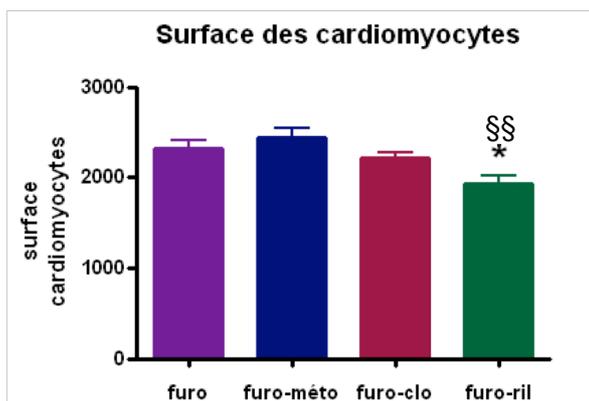


Figure 17 : Comparaison de la surface des cardiomyocytes entre les groupes par le test de variance ANOVA (* $p < 0,05$ vs groupe Furo et §§ $p < 0,01$ vs groupe Furo-Méto).

9.3. Effets rénaux des différents protocoles de traitement

	Urée	Créatinine	Sodium	Potassium	Protéines
Furo	7,2 ± 0,4	105 ± 5,0 §	146 ± 1	5,7 ± 0,5	45 ± 2,6
Furo-Méto	8,2 ± 1,3 §	109 ± 6,7 §	147 ± 3	4,6 ± 0,4	42 ± 2,7 §
Furo-Clo	5,7 ± 0,6	93 ± 6,2	150 ± 1	4,7 ± 0,7	45 ± 1,9 §
Furo-Ril	7,1	103	144	6,8	54
Témoin	5,4 ± 0,4	91±3,4	149 ± 3	5,1 ± 0,4	49 ± 1,3

Tableau 17 : Mesure des paramètres de la fonction rénale dans chaque groupe. Les groupes Furo-Méto, Furo-Clo et Furo-Ril sont chacun comparés au groupe Témoin par le test de variance ANOVA (§p<0,05).

Seule l'association Furo-Clo induit une amélioration de la fonction rénale, avec une normalisation de l'urémie et de la créatininémie (tableau 17). La différence des effets rénaux observés entre la clonidine et la rilménidine pourrait être expliquée par des études antérieures ayant montré une différence de sensibilité entre ces deux produits dans le modèle 1K,1C. Dans ce modèle, les effets diurétiques de la rilménidine et de la moxonidine sont réduits comparés à leurs effets chez un rat normotendu (Li et al., 1994). Par contre, les effets diurétiques de la clonidine sont comparables entre un rat témoin et un rat 1K,1C hypertendu (Li and Smyth, 1993).

La tendance à l'hypokaliémie dans les groupes Furo-Méto et Furo-Clo, comparée au groupe Témoin, pourrait être expliquée par la prise du diurétique. Le groupe Furo et le groupe Furo-Ril (dans lequel nous n'avons les résultats que d'un lapin) sont également sous diurétique mais présentent au contraire, une tendance à une augmentation de la kaliémie. Cette augmentation pourrait être due à la réduction de l'excrétion rénale de potassium, allant dans le sens d'une aggravation de la fonction rénale et de l'ICC. Ainsi cette aggravation pourrait masquer la présence d'une hypokaliémie, consécutive à la prise d'un diurétique.

Remarque : une augmentation de la concentration de potassium, augmentent les risques de mort subite. Ainsi, la forte mortalité observée dans le groupe Furo-Ril pourrait être associée à une augmentation de potassium, comme cela est observé chez un des lapins de ce groupe (www.neprohus.org).

10. CONCLUSION ET DISCUSSION

Dans ce travail, nous avons montré dans un même modèle d'ICC sévère, que l'association de la clonidine ou du métoprolol au furosémide améliore la fonction cardiaque, autant la fonction systolique que la fonction diastolique. Le diurétique administré seul ne permet qu'une baisse de la précharge et un maintien de la fonction systolique à l'état de base. Au contraire, la rilménidine s'est révélée fortement délétère, détériorant les fonctions systolique et diastolique et augmentant la mortalité des animaux. Il semble donc que, dans ICC, l'inhibition sympathique d'origine centrale ne soit pas délétère en elle-même, mais qu'il existe de grandes hétérogénéités entre la clonidine et une substance de 2^{ème} génération comme la rilménidine, par une action différente. Ce résultat semble conforter des données antérieures de notre équipe ainsi que celles obtenues chez l'Homme avec la moxonidine, elle aussi de 2^{ème} génération.

Les effets des différents traitements sur la fonction systolique sont en partie une conséquence de leurs effets sur la fonction diastolique. En effet, en rapportant les résultats obtenus dans les groupes Furo-Méto et Furo-Clo à une courbe pression volume, nous voyons que l'augmentation du diamètre télédiastolique, permet un meilleur remplissage, induisant alors une augmentation de la pente d'inotropisme (figure 18A). Par contre, dans le groupe Furo-Ril, nous observons une augmentation des diamètres télé-systolique et -diastolique, et une altération du remplissage actif par un effet inotrope négatif sur l'OG. La baisse du remplissage du VG se traduit alors par une réduction de la pente d'inotropisme, et donc par une altération de la fonction systolique (Figure 18B).

Dans tous les groupes, le diurétique permet une réduction des pressions de remplissage du VG.

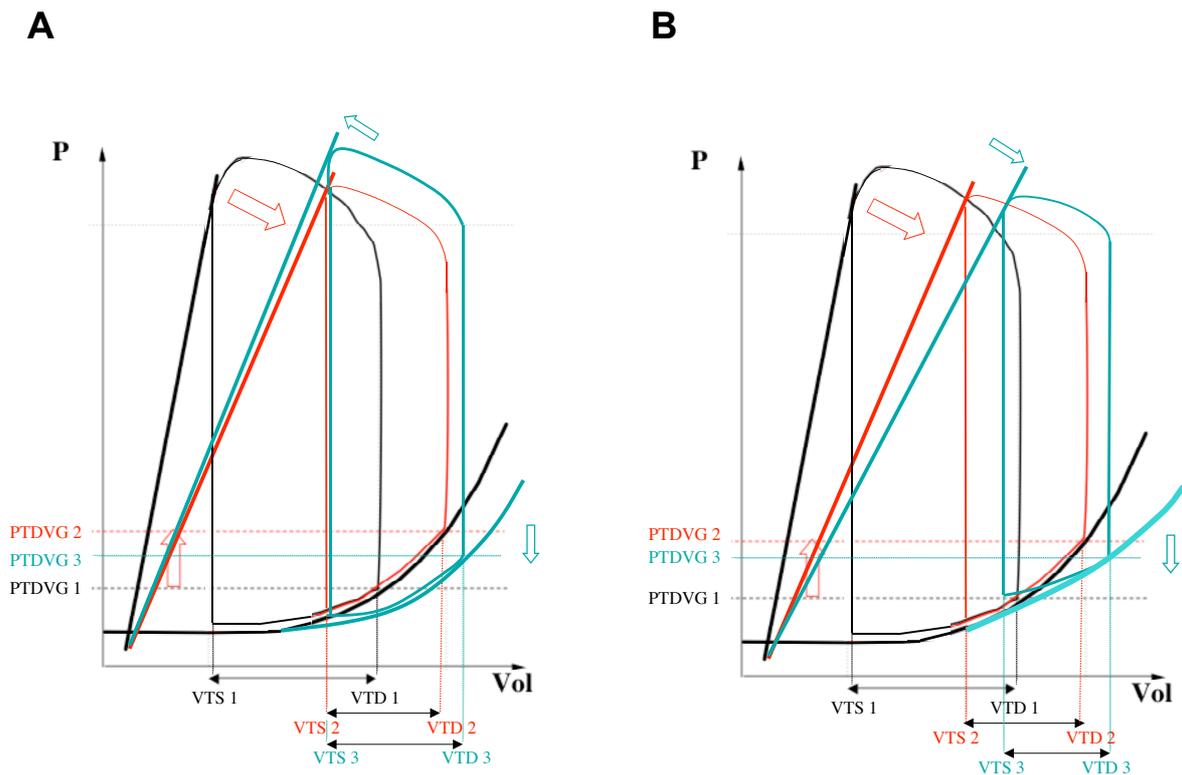


Figure 18 : Représentations de courbes pression-volume. Comparaison entre la courbe d'un lapin normal (noire), d'un lapin présentant une ICC (rouge) et, soit d'un lapin traité par l'association furosémide-métoprolol et furosémide-clonidine (Bleu) (A), soit d'un lapin traité par l'association furosémide-rilménidine (bleu) (B).

Afin d'expliquer les effets de chacun des produits sur les fonctions diastolique et systolique, et de comprendre les différences observées entre les 3 types d'inhibiteurs sympathiques testés, nous nous sommes intéressés aux facteurs impliqués dans l'évolution de la fonction cardiaque, tels que la fréquence cardiaque, les pressions de remplissage du VG, ou encore la fonction auriculaire.

➤ La fréquence cardiaque

La tachycardie est considérée comme un marqueur de la dysfonction cardiovasculaire, reflétant une hyperactivité sympathique. Les premiers stades de l'ICC sont caractérisés par une dilatation du VG associée à une altération de la fonction systolique ; l'augmentation de la FC a pour but de maintenir un débit cardiaque minimum. Mais, à long terme, cette tachycardie est responsable d'une dégradation de la fonction cardiaque : elle induit une augmentation de la consommation en O_2 , donc des risques d'ischémie, une arythmie -

augmentant les risques de mort subite - et une réduction du temps de relaxation et de remplissage du VG. Ainsi, une première cible dans le traitement de l'ICC est une réduction de la FC. La bradycardie améliore la fonction diastolique, en rallongeant le temps de relaxation et donc le temps de remplissage du VG. De plus, une corrélation positive entre la bradycardie et la fonction systolique a également été mise en évidence avec l'ivabradine, un agent purement bradycardisant (Shinke et al., 1999).

Les effets bénéfiques d'une bradycardie ont été retrouvés dans notre étude. Une nette amélioration de la fonction cardiaque globale a uniquement été observée dans les groupes Furo-Clo et Furo-Méto. Ces différents résultats rejoignent des études cliniques antérieures ayant montré un lien entre la bradycardie et l'amélioration du remplissage ventriculaire induite par le métoprolol ou par la clonidine, chez des patients présentant une ICC (Clements and Miller, 2001; Manolis et al., 1995). D'autres études ont également montré, avec ces produits, un lien entre une baisse significative de la FC et une augmentation de la fraction d'éjection (Azevedo et al., 1999; Clements and Miller, 2001).

L'absence de bradycardie dans le groupe Furo-Ril ne peut pas être une explication de l'altération de la fonction cardiaque observée, car les effets de ce traitement sur la FC sont similaires à ceux observés dans le groupe Furo. Nous pouvons donc penser que la rilménidine aurait, à plus long terme, un effet délétère propre. Cette hypothèse est appuyée par l'augmentation importante de la mortalité entre les 2^{ème} et 4^{ème} semaines suivant l'instauration de ce produit.

L'amélioration de la fonction cardiaque dans les groupes Furo-Méto et Furo-Clo dépend donc en partie, de l'effet bradycardisant des produits.

Cependant, l'état des pressions de remplissage du VG et de la fonction auriculaire a également une grande influence sur la fonction diastolique.

➤ Les pressions de remplissage et la fonction auriculaire

A un stade avancé de l'ICC, les pressions de remplissage du VG sont augmentées, réduisant ainsi le remplissage passif et actif du VG. Une baisse de ces pressions est donc une autre cible pour un traitement efficace. Dans notre étude, le furosémide a permis cette baisse.

En outre, la contribution de l'OG durant le remplissage ventriculaire est importante dans le maintien de la fonction diastolique. Dans les premiers stades d'une dysfonction diastolique, le remplissage actif permet de compenser l'altération du remplissage passif, due à un trouble de relaxation. Cependant, dans l'ICC, une dilatation de l'OG et une réduction de sa contractilité, s'ajoutant à l'augmentation des pressions de remplissage, altère d'autant plus la fonction diastolique (Kono et al., 1992). Ainsi un traitement s'avère d'autant plus efficace qu'il agit non seulement sur les pressions de remplissage mais également directement sur la fonction auriculaire. Dans notre étude, le métoprolol et la clonidine semblent avoir un effet propre sur la fonction auriculaire. A l'inverse du groupe traité au furosémide seul, nous avons en effet pu montrer une amélioration du remplissage tardif dans ces 2 groupes, par l'augmentation de la durée et la vitesse de l'onde A. De plus, l'augmentation du poids de l'OG observée dans les groupes Furo-Méto et Furo-Clo pourrait être associée à une augmentation de la contractilité de l'OG par hypertrophie.

Une étude réalisée chez le chien présentant une ICC, a montré les effets bénéfiques du métoprolol sur la contribution de l'OG dans le remplissage du VG (Shimoyama et al., 1996). L'amélioration de la phase active de la diastole est expliquée par une baisse de la post-charge de l'OG, et également par une amélioration significative de la fonction systolique de l'OG. Dans notre modèle, nous retrouvons donc les effets bénéfiques déjà décrits d'un β -bloqueur de référence sur les pressions de remplissage et sur la fonction auriculaire.

Une explication possible des effets bénéfiques du β -bloqueur dans l'amélioration de la fonction auriculaire pourrait être une modification de l'expression des RA β dans le myocarde. Chez des insuffisants cardiaques, une hyperstimulation des RA β par les catécholamines induit une baisse de la densité de ces récepteurs (Bristow et al., 1986) ; cette réduction a également été mise en évidence chez le lapin dans un modèle d'infarctus (Maurice et al., 1999). Un traitement au métoprolol induit une augmentation de la densité de ces récepteurs et améliore ainsi la réponse hémodynamique à la stimulation des catécholamines chez des patients présentant une cardiomyopathie dilatée (Heilbrunn et al., 1989). Cette augmentation pourrait alors expliquer l'amélioration de la fonction systolique de l'OG, améliorant alors la fonction diastolique du VG. Par ailleurs, une augmentation de la densité des récepteurs dans le VG, serait aussi une des explications de l'amélioration de la contractilité du VG observée dans notre étude.

A ce jour, aucune étude ne s'était encore intéressée aux effets propres de la clonidine sur la fonction auriculaire dans l'ICC. En prenant le métoprolol comme référence, nous observons que la clonidine a des effets se rapprochant de ceux observés avec le β -bloqueur : la réduction des pressions de remplissage du VG semble être accompagnée d'une amélioration de la fonction auriculaire. Deux explications différentes s'avèrent possibles. Tout d'abord, une explication similaire à celle proposée pour le métoprolol : la clonidine réduit la concentration des catécholamines chez des patients présentant une ICC (Grassi et al., 2001). Ainsi, une réduction de l'hyperactivation des $RA\beta$ par la NA induirait à plus long terme une augmentation de la densité de ces récepteurs et améliorerait alors la contractilité du VG et de l'OG. Mais l'affinité de la clonidine pour les $RA\alpha_1$ pourrait être une autre explication de son effet auriculaire (Atalik et al., 2000; Fujiwara and Chiba, 1993; Nakane and Chiba, 1987). Ces récepteurs ont été localisés dans l'OG et des études réalisées sur des oreillettes isolées ont mis en évidence un effet inotrope positif des agonistes adrénergiques, comme la clonidine, par l'activation des $RA\alpha_1$ de sous-type A et B (Borthne et al., 2000; Yu et al., 1993). Ainsi, la clonidine, par cette action inotrope positive sur l'OG, induirait une amélioration de sa fonction systolique, expliquant l'amélioration de la fonction cardiaque dans le groupe Furo-Clo. Cette hypothèse peut être appuyée par l'action inotrope positive d'autres produits de type imidazolinique présentant une affinité pour les $RA\alpha_1$ (Radwanska and Kaliszan, 1993).

Dans le groupe Furo-Ril, nous avons obtenu des effets totalement opposés à ceux de la clonidine. La rilménidine induit une altération de la contractilité de l'OG, qui est caractérisée par une baisse des vitesses de A et de Ar, et une réduction de la durée de Ar. Cette baisse de contractilité de l'OG est associée à une forte augmentation de la mortalité. Différentes hypothèses pourraient expliquer ce phénomène :

(1) Un effet bénéfique moindre du furosémide sur la fonction systolique après la première semaine de traitement dans le groupe Furo-Ril. L'augmentation des FE et FR était moins importante dans le groupe Furo-Ril que dans les autres groupes, donc une plus forte résistance de ces lapins aux diurétiques aurait pu être une cause de la plus forte mortalité observée (paragraphe 3). Cependant, l'écart-type observé dans les autres groupes, ne permettait pas de porter de conclusion. De plus, cette hypothèse semble infirmée par les résultats décrits dans le paragraphe 8. Après une semaine de traitement, les fractions d'éjection et de raccourcissement des 3 lapins du groupe Furo-Ril ayant survécu sont identiques à celles obtenues dans les groupes Furo et Furo-Clo. Le furosémide a donc la même efficacité dans les différents

groupes. Ainsi, l'aggravation des paramètres systoliques observée dans le groupe Furo-Ril, au cours du temps, serait indépendante de l'effet du furosémide, elle impliquerait la rilménidine elle-même. L'hypothèse d'une différence d'efficacité du furosémide entre les groupes peut donc être exclue.

(2) Un surdosage du produit. Nos résultats rejoindraient alors ceux de l'étude clinique MOXCON. Cette dernière avait pour but d'évaluer les effets sur la morbidité et mortalité d'un traitement avec la moxonidine, administrée à la dose de 1,5 mg, chez des patients en insuffisance cardiaque (Coats, 1999; Cohn et al., 2003). Elle a été arrêtée dès la première année, du fait d'une forte mortalité et d'un pourcentage d'aggravation de l'ICC plus importante dans le groupe des patients traités, que dans celui des patients sous placebo. L'hypothèse d'un surdosage a été proposée par l'étude MOXSE (Moxonidine Safety and Efficacy). Cette étude dose-réponse préliminaire avait pour but d'évaluer les effets de différentes doses de moxonidine administrée par libération prolongée (Swedberg et al., 2002). A la dose de 1,5 mg, dose utilisée dans l'étude MOXCON, la concentration de NA est fortement réduite, pouvant rendre l'activité sympathique insuffisante au maintien d'un débit cardiaque et de résistances périphériques minimum. Cette étude a également montré une relation entre l'augmentation de la dose et les effets secondaires. Dans notre étude, la forte mortalité observée avec la rilménidine pourrait donc aussi être associée à un surdosage. Nous n'avons en effet pas effectué d'étude dose-réponse préliminaire du fait d'un manque d'effectif et l'absence d'études antérieures, nous a conduit à choisir une dose de façon empirique.

(3) Une action délétère directe de la rilménidine sur l'OG. Dans le groupe Furo, la fonction auriculaire est maintenue durant tout le traitement, donc le diurétique n'a pas d'effet néfaste. Par contre, une action néfaste de la rilménidine sur l'OG aggraverait la dysfonction auriculaire déjà présente dans l'ICC. Cette altération de la fonction diastolique empêchant alors le cœur de maintenir un débit suffisant, et serait donc responsable de la forte mortalité observée.

Les deux inhibiteurs sympathiques centraux pourraient ainsi différer dans leurs mécanismes d'action. Nous essayerons d'expliquer pharmacologiquement cette hypothèse dans notre discussion générale en faisant une synthèse de l'ensemble de nos résultats.

***DISCUSSION
GENERALE
ET
PERSPECTIVES***

Ce travail avait deux objectifs principaux. Nous voulions, dans un premier temps, développer un modèle expérimental de cardiomyopathie hypertensive adapté à nos études, puis dans un deuxième temps, déterminer les intérêts des produits sympatho-inhibiteurs dans le traitement des dysfonctions cardiaques à différents stades de la cardiopathie hypertensive. Nous avons alors évalué en aigu et en chronique les effets cardiovasculaires de différents inhibiteurs sympathiques.

OBJECTIF 1 : DEVELOPPEMENT D'UN MODELE EXPERIMENTAL.

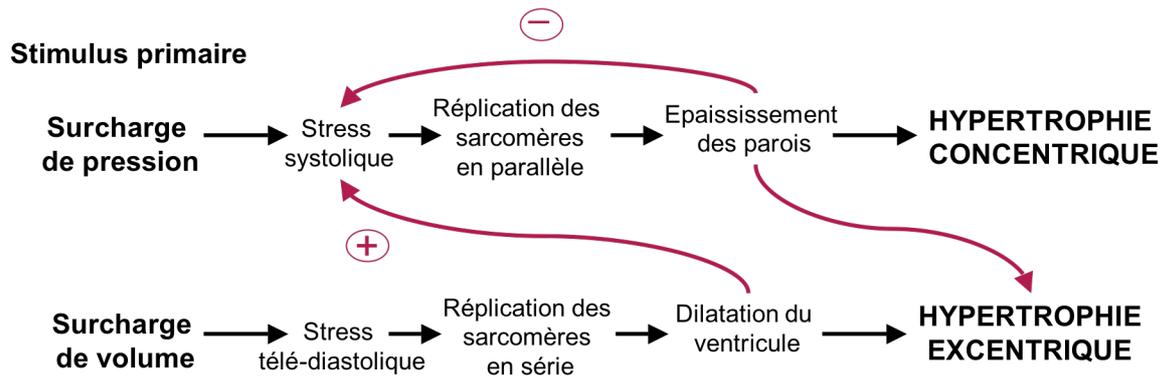
Le modèle de cardiopathie hypertensive choisi a été le lapin de Goldblatt. Nous avons observé, dans ce modèle, deux types d'évolution de la pathologie : (1) les lapins 1K,1C(HVG) développant une hypertension artérielle, associée à une hypertrophie compensatoire et une dysfonction diastolique (2) les lapins 1K,1C(IC) développant une insuffisance cardiaque congestive, associée à une hypertrophie excentrique et à une dysfonction diastolique au stade restrictif. Pour les différentes raisons que nous avons énumérées dans la 6^{ème} partie de l'introduction générale et dans le chapitre I, nous avons conclu que notre modèle était adapté aux diverses études pharmacologiques que nous souhaitions mener.

Cependant, les causes qui conduisent à ces différences d'évolutions entre les deux groupes, observées suite à la surcharge de pression induite par l'opération, restent mystérieuses. Pourquoi certains lapins arrivent à compenser la surcharge de pression par le développement d'une hypertrophie ventriculaire gauche concentrique, alors que d'autres animaux évoluent vers une décompensation avec une hypertrophie excentrique, la décompensation pouvant survenir dès la troisième semaine ? Existerait-il une différence entre les lésions rénales induites ou encore est-ce que la sévérité de la sténose serait une cause du développement d'une hypertrophie inadaptée chez certains animaux ?

La sténose de notre modèle est standardisée, nous n'observons donc pas de différence immédiate de la lésion déclenchée entre les groupes. En outre, la pesée des reins et des analyses histologiques ne montrent pas de différence visible de la morphologie rénale entre les deux groupes. Par contre, nous pouvons émettre l'hypothèse d'une sténose rénale plus sévère que celle réalisée dans d'autres études, l'hypertension développée par nos lapins 1K,1C(HVG) étant plus sévère que, par exemple, celle observée dans l'étude de McIntosh et al. (McIntosh et al., 1994). Afin de discuter cette hypothèse, nous pouvons faire un parallèle entre nos résultats et ceux d'autres études portant sur autre type d'hypertension artérielle : des études précliniques dans un modèle expérimental de coarctation aortique (chien, rat) et des

études cliniques portant sur des patients ayant une sténose aortique sévère. Norton et al. (Norton et al., 2002) ont observé chez des rats ayant subi une sténose aortique sévère, que 50% développaient une HTA et 50% développaient une ICC, certains par le développement d'une HVG concentrique et les autres d'une HVG excentrique. Cela met en jeu l'hypothèse de Grossman et al. (Grossman et al., 1975) (figure1).

Hypothèse



Une surcharge de pression est responsable d'un stress des parois en systole induisant, pour compenser, une augmentation des épaisseurs des parois et donc une HVG concentrique. Cela conduit alors à une réduction de la contrainte pariétale. Ce cas concerne les rats ayant développé une HTA dans l'étude de Norton et al.. Par contre, dans l'autre moitié des rats présentant une sténose aortique, le développement d'une hypertrophie inadéquate à l'augmentation de pression, empêcherait une réduction suffisante du stress systolique, conduisant à une décompensation avec une HVG excentrique. Ces rats développent alors une ICC. De telles observations ont déjà été faites chez l'Homme et le chien (Carabello, 2002). Une explication de ces deux types d'évolution a été la présence d'une différence entre les mécanismes de synthèse et de dégradation des protéines contractiles suivant le développement d'une hypertrophie concentrique ou d'une hypertrophie excentrique, celle-ci menant à une décompensation cardiaque. L'hypertrophie concentrique serait expliquée par l'augmentation de la synthèse des protéines contractiles, qui compenserait la surcharge de pression et donc baisserait le stress des parois en systole. L'augmentation de cette synthèse serait immédiate ; en effet, une étude a montré dans un modèle de surcharge de pression réalisé en aigu, une augmentation de la synthèse dès les 6 premières heures suivant l'intervention. Par contre, le développement d'une hypertrophie excentrique (observée dans un modèle de surcharge volumique, telle que la régurgitation mitrale) serait au contraire due : (1) à l'absence de cette

synthèse accrue, et donc à une absence de compensation, et (2) à une réduction de la dégradation des protéines (Carabello et al., 1992; Imamura et al., 1994).

Une variabilité dans l'activation de différents facteurs de régulation du système d'adaptation à la surcharge de pression et de volume pourrait donc être une explication de la décompensation cardiaque observée chez certains de nos lapins. L'opération chirurgicale que nous avons effectuée, induit dans un premier temps, une forte surcharge de pression associée à une augmentation de la production d'Ang II du fait de la sténose, puis le modèle 1K,1C est, par la suite, dépendant d'une surcharge volumique du fait de la néphrectomie. La majorité des lapins réagirait rapidement à la surcharge de pression par une augmentation de la synthèse des protéines, ce serait alors notre groupe 1K,1C(HVG). Par contre, une minorité des lapins représentant le groupe 1K,1C(IC), du fait de la sévérité de la sténose, ne s'adapterait pas à cette surcharge, la synthèse des protéines ne serait alors pas augmentée. Le développement ultérieur d'une surcharge volumique induirait alors une HVG excentrique avec décompensation, pouvant être expliquée par la réduction de la dégradation des protéines.

Perspectives

Afin de vérifier l'hypothèse d'une hypertrophie non adaptée à la surcharge, et donc de comprendre l'évolution de la maladie, il faudrait faire un suivi continu de l'évolution cardiaque et hémodynamique, avec une analyse biologique de la fonction rénale (urée, créatinine, ANP, BNP, natriurémie, kaliémie...), dès le premier jour suivant l'intervention chirurgicale. Il serait alors possible de déterminer si le groupe 1K,1C(IC) passe par une phase d'hypertension et une dysfonction rénale trop sévère menant à la décompensation ou, selon notre hypothèse, développe directement une hypertrophie excentrique, non adaptée, responsable de la décompensation. Par ailleurs, afin de vérifier l'hypothèse d'une différence entre la synthèse et la dégradation des protéines dans ces deux types d'hypertrophie, il serait intéressant d'évaluer, dans nos deux modèles, le niveau des protéines cardiaques totales, des chaînes de myosine et d'actine et de déterminer le rapport entre la synthèse et la dégradation de ces protéines. L'injection intraveineuse de leucine marquée permettrait de faire le rapport entre la synthèse et la dégradation des protéines, et la concentration des protéines contractiles pourrait être obtenue, par exemple, par une mesure de la concentration d'ARNm de la chaîne lourde de la myosine.

OBJECTIF 2 : TRAITEMENTS AIGUS ET CHRONIQUES

La grande partie de notre travail a ensuite été : (1) la détermination des intérêts potentiels des sympatho-inhibiteurs d'action centrale (rilménidine et clonidine) dans le traitement des différentes dysfonctions cardiaques présentes dans nos 2 modèles expérimentaux et (2) d'essayer de trouver une explication des différences existant entre les produits imidazoliniques de première et de deuxième génération, ceci par une analyse comparative des différents effets observés.

Selon les conditions d'administration et les dysfonctions cardiaques, la rilménidine induit des effets totalement opposés.

- (1) Chez le lapin hypertendu, une administration chronique de rilménidine a été bénéfique dans la régression de l'hypertrophie ventriculaire gauche et dans l'amélioration globale de la fonction diastolique, ceci sans effet néfaste sur la fonction systolique (Chapitre III).
- (2) Par contre, dans ce même modèle, une administration en aigu de la rilménidine altérerait le remplissage cardiaque (Chapitre II §3.3). En outre, chez les lapins ayant développé une insuffisance cardiaque congestive, ce produit induirait une dégradation de la fonction diastolique, accompagnée d'une altération de la fonction systolique et d'une aggravation de l'hypertrophie ventriculaire excentrique (Chapitre IV §8). Il s'en suit alors une forte augmentation de la mortalité (Chapitre IV §4).

Par ailleurs, les divers effets induits par la rilménidine semblent spécifiques à ce produit. En effet, nous avons montré, que la clonidine n'a aucun effet néfaste sur la fonction diastolique en aigu chez le lapin 1K,1C(HVG) (Chapitre II §3.3), et en chronique, chez le lapin 1K,1C(IC), elle améliore les fonctions systolique et diastolique (Chapitre IV §7). Nous retrouvons donc, dans notre modèle expérimental, une différence entre les produits de première et de deuxième générations. La clonidine a été bénéfique dans un modèle d'infarctus chez le rat (Zhang and Cheng, 2000), alors que la moxonidine s'était avérée délétère dans l'étude clinique MOXCON (Coats, 1999) et dans des travaux précédents de notre laboratoire, où nous avons observé une augmentation de mortalité avec une faible dose de moxonidine (Thomas et al., 2004).

Afin de comprendre les différents effets observés et d'essayer d'expliquer la différence entre les produits, nous avons jugé nécessaire de différencier les effets centraux des effets périphériques de ces produits.

Implication de l'action sympatho-inhibitrice centrale des agents imidazoliniques :

Effets hypotenseur et bradycardisant : En aigu, l'activation des $RA\alpha_2$ et/ou RI_1 dans le bulbe rachidien par les différents produits testés est responsable de l'effet hypotenseur et en partie de leur action bradycardisante (figures 2, 3, 4). Cet effet central a déjà été mis en évidence dans diverses études, par l'administration centrale des différents produits (Godwin et al., 1998; Sy et al., 2006; Sy et al., 2001). De la même manière, l'effet hypotenseur et bradycardisant d'origine centrale du LNP599, a été montré chez le rat anesthésié par une injection du produit par voie centrale (thèse de V. Gasparik, article en révision). Ainsi, ces effets seraient comparables entre les différents produits.

Effet antihypertrophique : Comme cela a été décrit dans l'introduction, la NA est impliquée dans le développement de l'hypertrophie cardiaque et vasculaire. Nous avons montré chez les lapins hypertendus, que la rilménidine administrée de façon chronique a un effet anti-hypertrophique. Cet effet pourrait donc être expliqué par l'action inhibitrice de ce produit sur la libération de noradrénaline. Nous n'avons pas testé les effets de la clonidine dans le modèle d'hypertension, mais, par son action inhibitrice sur la libération de la NA, elle devrait avoir des effets comparables.

Effets délétères : ces effets observés avec la rilménidine ne semblent pas être expliqués par un effet central du produit. Nous pouvons donner plusieurs arguments à cette affirmation.

(1) Une trop forte baisse de NA pourrait être délétère sur la fonction cardiaque dans l'ICC. Or, notre étude a montré, à l'inverse de la rilménidine, que la clonidine administrée de façon chronique aux animaux développant une ICC, permet une nette amélioration des fonctions cardiaque et rénale. La clonidine et la rilménidine ont chacune une action sympatho-inhibitrice centrale (Bousquet et al., 1992). De plus, l'inhibition de l'activité sympathique par la clonidine est plus importante que celle obtenue avec la rilménidine. En effet, la clonidine possède une affinité pour les $RA\alpha_2$ plus importante que la rilménidine, et possède une affinité pour les récepteurs présynaptiques nonI1/nonI2 (Gothert et al., 1999). L'activation de ces deux types de récepteurs, localisés au niveau présynaptique, induit un rétrocontrôle négatif sur la libération de NA, augmentant alors l'action sympatho-inhibitrice de la clonidine.

(2) Par ailleurs, diverses études ont montré les effets bénéfiques de la clonidine chez des patients présentant une ICC, tels qu'une amélioration de la fonction systolique ou encore une diminution des arythmies (Manolis et al., 1998; Zhang et al., 1998).

(3) Pour finir, une étude a récemment montré les effets bénéfiques d'une sympathectomie dans un modèle d'insuffisance cardiaque sur la fonction diastolique. En effet,

dans un modèle de sténose aortique chez le rat, une sympathectomie, simulant un blocage complet du SNS, induit une amélioration des fonctions systolique (augmentation du diamètre télédiastolique) et diastolique (réduction de l'onde E) (Perlini et al., 2006).

Intéressons-nous donc maintenant aux effets périphériques.

Actions périphériques :

Les RI₁ ont été mis en évidence dans différents organes qui sont fortement impliqués dans la régulation cardiovasculaire : le sinus carotidien (Ernsberger et al., 1998), les reins (Ernsberger et al., 1995) et le cœur (Molderings et al., 1999). Divers effets observés pourraient donc être expliqués par une action périphérique de nos produits.

Effets bradycardisants : Separovic et al. ont montré que la stimulation des RI₁ dans les cellules de phéochromocytomes (PC12, cellules n'exprimant pas de RA α_2) induit une libération de prostaglandine E2 (PGE2) par l'activation du diacyl glycérol (Separovic et al., 1996; Separovic et al., 1997). Or la PGE2 sensibilise l'activité des barorécepteurs dans des modèles de glomus carotidien isolé (Liu et al., 2000) et Ernsberger et al. ont montré la présence de RI₁ dans le glomus carotidien du chat et du lapin. Ainsi, une activation de ces récepteurs dans cette région pourrait faciliter la réactivité vagale par libération de PGE2, et donc être impliquée dans l'effet bradycardisant que nous avons montré (figures 2, 3, 4). Par ailleurs, l'action bradycardisante de la clonidine pourrait impliquer sa propriété d'agoniste des récepteurs muscariniques de type 2 (RM₂) dans le cœur (figure 3) (Boucher et al., 1996; Simon et al., 1990). En effet, l'activation de ces récepteurs via l'inhibition de l'AMPc, induit une baisse de la FC.

Effet hypotenseur : les produits imidazoliniques ont des effets rénaux associés en partie à la présence des récepteurs dans le rein. En effet, une injection directe de moxonidine dans l'artère rénale induit une augmentation de l'excrétion de sel et d'eau qui est bloquée par l'administration d'idazoxan (Allan et al., 1993). Une action rénale pourrait participer à la régulation de la pression artérielle à long terme. Cependant, nous n'avons montré aucun effet rénal de la rilménidine dans notre modèle d'hypertension ; cela va dans le sens d'une étude antérieure ayant montré une diminution des effets diurétiques de la rilménidine et de la moxonidine chez des rats 1K,1C, comparé à des rats Wistar (Li et al., 1994). Ainsi, dans notre modèle, nous pouvons exclure l'implication du rein dans l'effet hypotenseur.

Une autre action périphérique doit être prise en compte. Comme nous l'avons dit, les RI_1 ont été identifiés dans le cœur (oreillettes et ventricules) par l'équipe de S. Mukaddam-Daher (El-Ayoubi et al., 2002) et elle a montré une relation entre ces récepteurs et l'ANP, un peptide vasodilatateur normalement sécrété par les oreillettes (Mukaddam-Daher, 2006; Mukaddam-Daher and Gutkowska, 2004; Mukaddam-Daher et al., 1997) (figures 2, 3, 4). Or, l'ANP est impliqué dans la régulation de la PA : des souris surexprimant l'ANP présentent une hypotension (Steinhilper et al., 1990) et inversement, des souris invalidées du gène ANP sont hypertendues (John et al., 1995). Donc nous pouvons émettre l'hypothèse d'une régulation périphérique de la PA par des produits de type imidazolinique.

Effets antihypertrophiques et antifibrotiques : l'ANP induit également des effets antihypertrophiques sur le cœur. Des souris invalidées d'un récepteur de l'ANP, le récepteur NPR-A, développent une hypertrophie, donc l'ANP pourrait avoir un rôle inhibiteur endogène de la croissance des cellules. En outre, les souris invalidées des récepteurs de ce peptide développent une fibrose cardiaque (Oliver et al. 1997). Ainsi, en plus de l'effet antihypertrophique par l'inhibition centrale du SNS, les produits tels que la rilménidine auraient un effet périphérique.

Mais, parallèlement à ces effets bénéfiques, il est également possible d'expliquer les effets délétères de ces produits par des effets périphériques.

Effets délétères de la rilménidine et du LNP 599 par un effet cardiaque direct. Dans chacune de nos études, nous observons, au moins, une réduction de la vitesse des ondes A et Ar, reflétant une réduction de la contractilité de l'OG. En aigu, cet effet s'avère délétère du fait de l'injection en bolus du LNP 599 et de la rilménidine, induisant un effet immédiat important. Lors de l'étude chronique réalisée chez les lapins 1K,1C(HVG), l'effet auriculaire observé avec la rilménidine ne se répercute pas sur la fonction cardiaque globale car l'administration du produit est à libération prolongée, la fonction auriculaire est normale chez ces lapins et la rilménidine s'avère bénéfique sur la phase précoce du remplissage du VG. Au contraire, chez les lapins insuffisants cardiaques, une aggravation par la rilménidine de la fonction auriculaire - qui est déjà altérée par une forte dilatation auriculaire et des pressions ventriculaires élevées - rendrait le remplissage ventriculaire insuffisant. Il en résulterait une aggravation de la fonction systolique et donc une décompensation totale (figures 2 et 3).

Les effets inotropes négatifs sur l'OG de ces agents imidazoliniques pourraient être expliqués par une action sur les RI_1 cardiaques. En effet, une étude réalisée sur l'OG isolée du rat

1K,1C, a montré que la moxonidine, un agent imidazolinique pharmacologiquement comparable à la rilménidine, induit une baisse de la contractilité de l'OG ; l'effet étant plus important que chez les rat témoins, et étant atténué par l'administration de l'efaroxan, un antagoniste des RI_1 (Cao et al., 2004). Cette étude a de plus montré que la baisse de contractilité avec la moxonidine était liée à une augmentation de la concentration d'ANP. L'ANP pourrait donc être une cause de l'effet inotrope négatif observé.

Notre surprise a été de voir que la clonidine présente des effets différents de ceux de la rilménidine et du LNP599. Elle possède pourtant une bonne affinité pour les RI_1 et devrait donc également induire des effets auriculaires. Pourtant, cette substance n'induit aucune réduction de la vitesse de l'onde A, à l'inverse des 2 autres produits de type imidazolinique. L'étude de Chunhua Cao et al. a montré le même phénomène : sur l'OG isolée, la clonidine n'induit pas de réduction de la contractilité de l'OG ni d'augmentation significative de la sécrétion d'ANP, à l'inverse de la moxonidine.

Cette absence d'effet de la clonidine pourrait être expliquée par un phénomène compensatoire : en plus de son affinité pour $RA\alpha_2$ et RI_1 , la clonidine présente une affinité pour les $RA\alpha_1$ (Atalik et al., 2000; Fujiwara and Chiba, 1993; Nakane and Chiba, 1987). Ces récepteurs ont été localisés dans l'OG et des études réalisées sur des oreillettes isolées ont mis en évidence un effet inotrope positif des agonistes adrénergiques par l'activation des $RA\alpha_1$ de sous-type A et B (Borthne et al., 2000; Yu et al., 1993) (figure 3). Ainsi, cet effet inotrope positif pourrait masquer l'effet inotrope négatif induit par la stimulation des RI_1 dans l'OG.

En outre, la rilménidine et le LNP599 sont moins lipophiles et passent donc moins facilement la BHE. La dose administrée doit être plus élevée pour obtenir le même effet hypotenseur que la clonidine. Ainsi, les effets cardiaques directs de la rilménidine ou du LNP599 seraient d'autant plus importants que la concentration du produit est élevée en périphérie.

Remarque : une étude semble pourtant contredire les résultats de Chunhua Cao et al. et notre hypothèse : Raasch W et al. ont montré les effets inotropes positifs de la moxonidine par l'activation des $RA\alpha_1$ (Raasch et al., 2000) .Une explication possible de la différence observée pourrait être l'utilisation d'une très forte concentration de moxonidine, qui présente une légère affinité pour les $RA\alpha_1$. Mais, il est surprenant que les auteurs de cette étude n'observent pas d'effet inotrope positif avec la clonidine, alors que ce produit a une forte affinité pour les $RA\alpha_1$, et ils ne donnent pas d'explication à ce résultat.

Les agents imidazoliniques auraient donc des effets cardiovasculaires à la fois par une action centrale et par une action périphérique. De plus, les effets des produits de première (clonidine) et deuxième génération (rilménidine, LNP599) pourraient en partie différer par leur affinité pour les $RA\alpha_1$, la rilménidine et le LNP599 étant exempts d'affinité pour ces récepteurs. Pour conclure, les figures ci-dessous permettent de faire une synthèse de divers explications possibles des différents effets observés durant tout ce travail (figures 2, 3, 4).

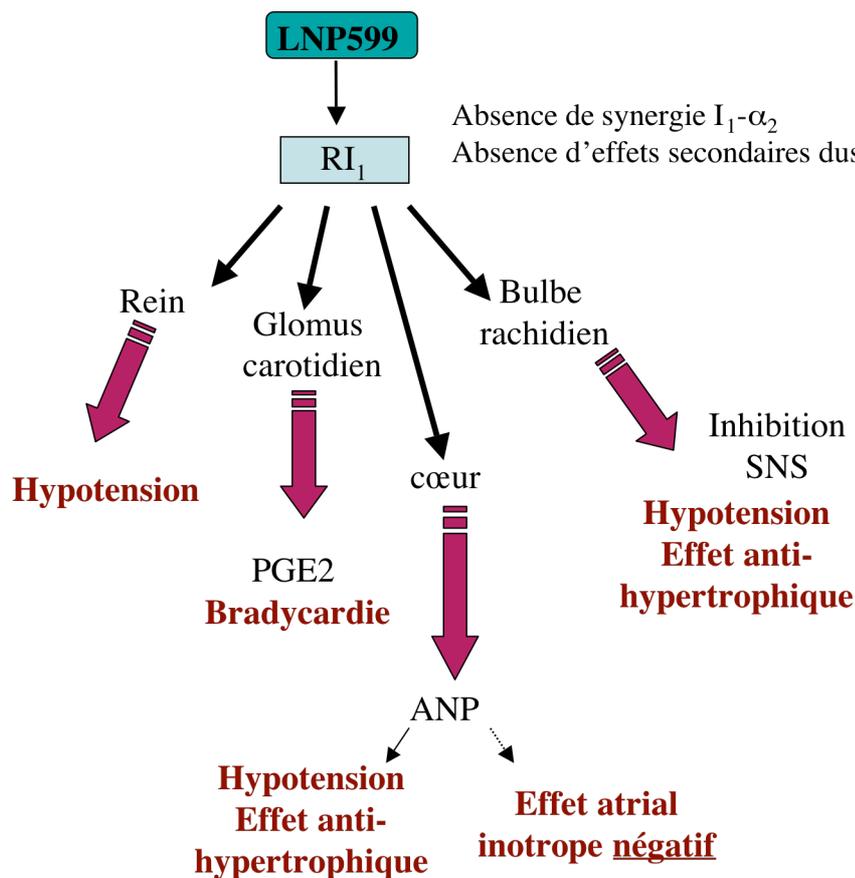


Figure 2 : Proposition de mécanismes d'action du LNP599

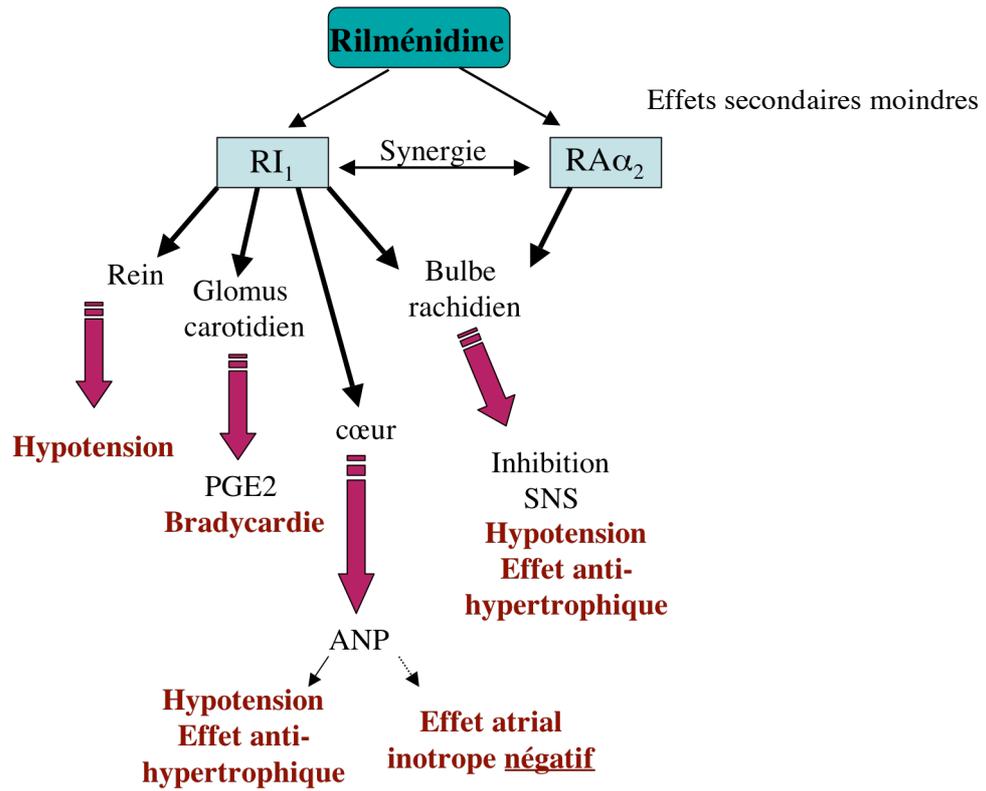


Figure 3 : Proposition de mécanismes d'action de la rilménidine

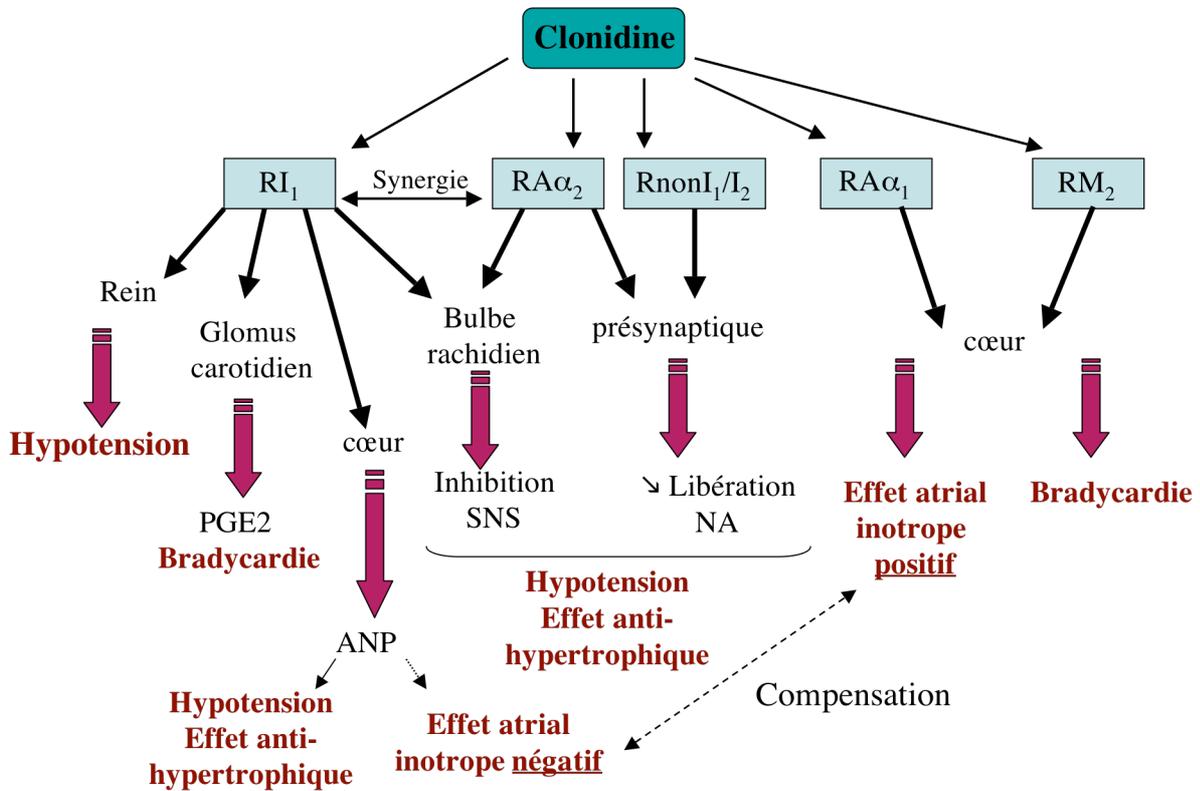


Figure 4 : Proposition de mécanismes d'action de la clonidine

Perspectives

A ce jour, l'implication centrale des produits imidazoliniques dans la fonction cardiaque est assez bien établie. Par contre, beaucoup des points restent en suspens quant à l'implication des RI_1 périphériques dans la régulation cardiovasculaire. Plusieurs des propositions faites dans les paragraphes précédents pourraient être vérifiées.

Tout d'abord, l'effet bradycardisant des prostaglandines (PG) induit par l'activation des RI_1 dans le glomus carotidien, pourrait être vérifié en utilisant un inhibiteur de la cyclooxygénase (COX, produit prévenant la production de PG). Un blocage ou une baisse de l'effet bradycardisant d'un produit imidazolinique sélectif, tel que le LNP599, après une administration de la COX chez le lapin normotendu ou hypertendu, mettrait en évidence l'implication des RI_1 dans la baisse de la FC. Des études antérieures au sein de notre laboratoire ont montré la nécessité d'anesthésier l'animal au pentobarbital pour ce type d'étude, car éveillé, la forte réactivité vagale masque les effets propres du produit imidazolinique sur le système baroréflexe.

Par ailleurs, notre hypothèse d'un effet inotrope négatif sur l'oreillette gauche des produits imidazoliniques qui peut être masqué par une activation des $RA\alpha_1$, pourrait être vérifiée par des études *in vivo* complémentaires et *ex vivo* :

- il faudrait compléter l'étude chronique des lapins 1K,1C(HVG) réalisée dans le chapitre III, par un traitement avec la clonidine et un traitement avec le LNP599. L'étude pourrait alors être mise en parallèle à celle réalisée en aigu et peut-être confirmer l'absence d'un effet inotrope négatif de la clonidine sur l'oreillette gauche chez des lapins hypertendus ;
- Il faudrait également compléter l'étude chronique chez les lapins insuffisants en augmentant l'effectif des groupes, afin de confirmer la différence entre les deux produits, que nous avons observée (chapitre IV §9) ;
- une étude en aigu, similaire à celle réalisée dans le chapitre II, pourrait être faite chez l'animal sain. Un profil comparable à celui observé chez l'animal hypertendu appuyerait notre hypothèse d'un effet direct sur l'oreillette gauche. Puis, par ces études en aigu, l'implication des $RA\alpha_1$ dans l'effet de la clonidine, pourrait être montrée par une administration de la prazosine, un antagoniste des $RA\alpha_1$, avant celle de la clonidine. Dans notre hypothèse, la clonidine retrouverait alors les mêmes effets inotropes négatifs que la rilménidine ;

- des études *ex vivo* effectuées sur les oreillettes isolées des lapins 1K,1C(HVG) et 1K,1C(IC), similaires à celle de l'équipe Cao et al. (Cao et al., 2004), permettraient de confirmer que les effets de la rilménidine et du LNP599 sur la contractilité, sont exclusivement cardiaques. En outre, une perfusion de prazosine avant la perfusion de clonidine permettrait de confirmer l'implication des RA α_1 dans les effets observés avec la clonidine.

Le dernier point que nous avons abordé a été l'implication de l'ANP dans les effets périphériques des produits imidazoliniques. Pour le mettre en évidence, il serait par exemple intéressant de traiter les lapins 1K,1C(HVG) avec le LNP509, produit synthétisé dans notre laboratoire, qui ne passe pas la barrière hémato-encéphalique et de doser la concentration d'ANP durant ce traitement. Ainsi, seuls les effets périphériques seront observés et il sera possible de déterminer si l'ANP serait en partie impliqué dans les effets hypotenseurs et antihypertrophiques et également dans les effets inotropes négatifs.

L'existence d'un lien entre les RI $_1$ et l'ANP a été montrée, pourtant aucune étude n'a encore montré s'il était direct. Ainsi, afin de comprendre ce lien, il serait intéressant d'étudier la voie RI $_1$ -ANP, par des travaux de cardiomyocytes ou de fibroblastes cardiaques en culture (choix dépendant des cellules qui expriment ce récepteur - aucune étude n'ayant encore réalisé de radiomarquage sur les deux types de cellules). Il sera possible de déterminer les conséquences directes ou non d'une activation des RI $_1$ par un produit sélectif sur la libération de l'ANP.

Une dernière question se poserait alors : dans le traitement de l'ICC, faudrait-il développer des molécules présentant une forte sélectivité pour les RI $_1$ sans aucune affinité pour les RA α_2 , mais avec une certaine affinité pour les RA α_1 ? Les seuls effets néfastes de ces produits par leur action cardiaque sur les RI $_1$ pourraient alors être compensés par leur action sur les RA α_1 . Cependant, il faudrait cibler les RA α_1 cardiaques, car l'effet vasoconstricteur de ces récepteurs ne serait que néfaste dans l'ICC. Il existe plusieurs sous-types de RA α_1 , principalement de sous-type A et B. Chez l'Homme, ces deux sous-types sont présents dans le cœur (McCloskey et al., 2003), par contre, dans les artères, ce sont principalement des RA α_1 de sous-type A (Han et al., 2003; Jarajapu et al., 2001; Jarajapu et al., 2003). Il resterait donc à synthétiser des produits sélectifs des RA α_1 de sous-type B.

BIBLIOGRAPHIE

- CIBIS I** (1994). A randomized trial of beta-blockade in heart failure. The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study (CIBIS). CIBIS Investigators and Committees. *Circulation* 90, 1765-1773.
- CIBIS II** (1999). The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II (CIBIS-II): a randomised trial. *Lancet* 353, 9-13.
- Abergel, E.**, and Habib, G. (2003). [Hemodynamic assessment and prognostic data obtained by echography in cardiac insufficiency]. *Arch Mal Coeur Vaiss* 96 *Spec No 5*, 43-50.
- Agabiti-Rosei, E., Muiesan, M. L., Rizzoni, D., Zulli, R., Calebich, S., Beschi, M., **Castellano, M.**, and Muiesan, G. (1992). Reduction of left ventricular hypertrophy after longterm antihypertensive treatment with doxazosin. *J Hum Hypertens* 6, 9-15.
- Aliev, G.**, and Burnstock, G. (1998). Watanabe rabbits with heritable hypercholesterolaemia: a model of atherosclerosis. *Histol Histopathol* 13, 797-817.
- Allan, D. R.**, Penner, S. B., and Smyth, D. D. (1993). Renal imidazoline preferring sites and solute excretion in the rat. *Br J Pharmacol* 108, 870-875.
- Alli, C.**, Di Tullio, M., Mariotti, G., Taioli, E., Belli, C., and Radice, M. (1992). Effects of long-term treatment with prazosin on left ventricular diastolic function in mild to moderate hypertension. *Chest* 101, 181-186.
- Amann, K.**, Greber, D., Gharehbaghi, H., Wiest, G., Lange, B., Ganten, U., Mattfeldt, T., and Mall, G. (1992). Effects of nifedipine and moxonidine on cardiac structure in spontaneously hypertensive rats. Stereological studies on myocytes, capillaries, arteries, and cardiac interstitium. *Am J Hypertens* 5, 76-83.
- Aronow, W. S.** (2006). Epidemiology, pathophysiology, prognosis, and treatment of systolic and diastolic heart failure. *Cardiol Rev* 14, 108-124.
- Arques, S.** (2003). Usefulness of combined Doppler indexes in predicting left ventricular filling pressures in patients with acute heart failure. *Am J Cardiol* 92, 649-650.
- Atalik, K. E.**, Sahin, A. S., and Dogan, N. (2000). Interactions between phenylephrine, clonidine and xylazine in rat and rabbit aortas. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 22, 145-147.
- Aurigemma, G. P.**, Silver, K. H., Priest, M. A., and Gaasch, W. H. (1995). Geometric changes allow normal ejection fraction despite depressed myocardial shortening in hypertensive left ventricular hypertrophy. *J Am Coll Cardiol* 26, 195-202.
- Azevedo, E. R.**, Newton, G. E., and Parker, J. D. (1999). Cardiac and systemic sympathetic activity in response to clonidine in human heart failure. *J Am Coll Cardiol* 33, 186-191.
- Badoer, E.**, Head, G. A., and Korner, P. I. (1983). Effects of intracisternal and intravenous alpha-methyldopa and clonidine on haemodynamics and baroreceptor--heart rate reflex properties in conscious rabbits. *J Cardiovasc Pharmacol* 5, 760-767.
- Baumwart, R. D.**, Meurs, K. M., Atkins, C. E., Bonagura, J. D., DeFrancesco, T. C., Keene, B. W., Koplitz, S., Luis Fuentes, V., Miller, M. W., Rausch, W., and Spier, A. W. (2005). Clinical, echocardiographic, and electrocardiographic abnormalities in Boxers with cardiomyopathy and left ventricular systolic dysfunction: 48 cases (1985-2003). *J Am Vet Med Assoc* 226, 1102-1104.
- Beguin, M.**, Houpe, D., Peltier, M., Chapelain, K., Lesbre, J. P., and Tribouilloy, C. (2004). [Epidemiology and aetiology of cardiac failure in the Somme]. *Arch Mal Coeur Vaiss* 97, 113-119.
- Bergstrom, A.**, Andersson, B., Edner, M., Nylander, E., Persson, H., and Dahlstrom, U. (2004). Effect of carvedilol on diastolic function in patients with diastolic heart failure and preserved systolic function. Results of the Swedish Doppler-echocardiographic study (SWEDIC). *Eur J Heart Fail* 6, 453-461.

- Bevan, R. D.** (1984). Trophic effects of peripheral adrenergic nerves on vascular structure. *Hypertension* 6, III19-26.
- Blake, D. W.** (2000). Dexmedetomidine and hemodynamic responses to simulated hemorrhage in experimental heart failure. *Anesth Analg* 91, 1112-1117.
- Bland, J. M.,** and Altman, D. G. (1986). Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1, 307-310.
- Bobik, A.,** Dilley, R., and Kanellakis, P. (1998). Sympatho-adrenal mechanisms regulating cardiovascular hypertrophy in primary hypertension: a role for rilmenidine? *J Hypertens Suppl* 16, S51-54.
- Borthne, K.,** Langslet, A., Lindberg, H., Skomedal, T., and Osnes, J. B. (2000). Differential recruitment of alpha 1- and beta-adrenoceptors in inotropic control of atrial child myocardium by endogenous noradrenaline. *Acta Physiol Scand* 170, 21-31.
- Boucher, M.,** Dubar, M., Chapuy, E., and Chassaing, C. (1996). Interactions of the cardiac chronotropic effects of rilmenidine with the autonomic nervous system in conscious dogs: comparison with clonidine. *J Auton Pharmacol* 16, 13-20.
- Bousquet, P.,** Bricca, G., Dontenwill, M., Feldman, J., Belcourt, A., and Tibirica, E. (1992). [Pharmacology of imidazoline receptors and cardiovascular regulation. Imidazoline receptors and blood pressure]. *Therapie* 47, 525-530.
- Bousquet, P.,** Feldman, J., and Schwartz, J. (1984). Central cardiovascular effects of alpha adrenergic drugs: differences between catecholamines and imidazolines. *J Pharmacol Exp Ther* 230, 232-236.
- Bousquet, P.,** and Guertzenstein, P. G. (1973). Localization of the central cardiovascular action of clonidine. *Br J Pharmacol* 49, 573-579.
- Brater, D. C.** (1998). Diuretic therapy. *N Engl J Med* 339, 387-395.
- Bricca, G.,** Dontenwill, M., Molines, A., Feldman, J., Belcourt, A., and Bousquet, P. (1988). Evidence for the existence of a homogeneous population of imidazoline receptors in the human brainstem. *Eur J Pharmacol* 150, 401-402.
- Briest, W.,** Holzl, A., Rassler, B., Deten, A., Leicht, M., Baba, H. A., and Zimmer, H. G. (2001). Cardiac remodeling after long term norepinephrine treatment in rats. *Cardiovasc Res* 52, 265-273.
- Bristow, M. R.,** Adams, K. F., Jr., Bauman, J. L., Feldman, A. M., Giles, T. D., Goldstein, S., Mann, D. L., and Talbert, R. L. (2005). The COMET trial. *Congest Heart Fail* 11, 39-47.
- Bristow, M. R.,** Ginsburg, R., Umans, V., Fowler, M., Minobe, W., Rasmussen, R., Zera, P., Menlove, R., Shah, P., Jamieson, S., and et al. (1986). Beta 1- and beta 2-adrenergic-receptor subpopulations in nonfailing and failing human ventricular myocardium: coupling of both receptor subtypes to muscle contraction and selective beta 1-receptor down-regulation in heart failure. *Circ Res* 59, 297-309.
- Brooks, W. W.,** Conrad, C. H., Nedder, A. P., Bing, O. H., and Slawsky, M. T. (2003). Thoracic massage permits use of echocardiography in unanesthetized rats. *Comp Med* 53, 288-292.
- Bruban, V.,** Estato, V., Schann, S., Ehrhardt, J. D., Monassier, L., Renard, P., Scalbert, E., Feldman, J., and Bousquet, P. (2002). Evidence for synergy between alpha(2)-adrenergic and nonadrenergic mechanisms in central blood pressure regulation. *Circulation* 105, 1116-1121.
- Burke, S. L.,** Malpas, S. C., and Head, G. A. (1998). Effect of rilmenidine on the cardiovascular responses to stress in the conscious rabbit. *J Auton Nerv Syst* 72, 177-186.
- Bylund, D. B.** (1988). Subtypes of alpha 2-adrenoceptors: pharmacological and molecular biological evidence converge. *Trends Pharmacol Sci* 9, 356-361.

- Callens-el Amrani, F.**, Paolaggi, F., and Swynghedauw, B. (1989). Remodelling of the heart in DOCA-salt hypertensive rats by propranolol and by an alpha-2 agonist, rilmenidine. *J Hypertens* 7, 947-954.
- Cao, C.**, Kang, C. W., Kim, S. Z., and Kim, S. H. (2004). Augmentation of moxonidine-induced increase in ANP release by atrial hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 287, H150-156.
- Capomolla, S.**, Febo, O., Gnemmi, M., Riccardi, G., Opasich, C., Caporotondi, A., Mortara, A., Pinna, G. D., and Cobelli, F. (2000). Beta-blockade therapy in chronic heart failure: diastolic function and mitral regurgitation improvement by carvedilol. *Am Heart J* 139, 596-608.
- Carabello, B. A.** (2002). Concentric versus eccentric remodeling. *J Card Fail* 8, S258-263.
- Carabello, B. A.**, Zile, M. R., Tanaka, R., and Cooper, G. t. (1992). Left ventricular hypertrophy due to volume overload versus pressure overload. *Am J Physiol* 263, H1137-1144.
- Carvalho, B. M.**, Bassani, R. A., Franchini, K. G., and Bassani, J. W. (2006). Enhanced calcium mobilization in rat ventricular myocytes during the onset of pressure overload-induced hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 291, H1803-1813.
- Chan, C. K.**, and Head, G. A. (1996). Relative importance of central imidazoline receptors for the antihypertensive effects of moxonidine and rilmenidine. *J Hypertens* 14, 855-864.
- Chetboul, V.**, Tidholm, A., Nicolle, A., Sampedrano, C. C., Gouni, V., Pouchelon, J. L., Lefebvre, H. P., and Concordet, D. (2005). Effects of animal position and number of repeated measurements on selected two-dimensional and M-mode echocardiographic variables in healthy dogs. *J Am Vet Med Assoc* 227, 743-747.
- Cifkova, R.**, Niederle, P., Romanovska, L., Skibova, J., Fridl, P., Skalicka, H., and Widimsky, J. (1987). Heart and vessel hypertrophy in hypertension: possibilities of regression. *J Hypertens Suppl* 5, S407-410.
- Cimini, C. M.**, Gonzalez, M. A., and Weiss, H. R. (1991). Reduction of cardiac hypertrophy in renal hypertensive rabbits with pindolol. *J Pharmacol Exp Ther* 257, 541-546.
- Ciulla, M. M.**, Paliotti, R., Esposito, A., Diez, J., Lopez, B., Dahlof, B., Nicholls, M. G., Smith, R. D., Gilles, L., Magrini, F., and Zanchetti, A. (2004). Different effects of antihypertensive therapies based on losartan or atenolol on ultrasound and biochemical markers of myocardial fibrosis: results of a randomized trial. *Circulation* 110, 552-557.
- Clements, I. P.**, and Miller, W. L. (2001). Effect of metoprolol on rest and exercise left ventricular systolic and diastolic function in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am Heart J* 141, 259.
- Coats, A. J.** (1999). Heart Failure 99 -- the MOXCON story. *Int J Cardiol* 71, 109-111.
- Cohn, J. N.**, Levine, T. B., Olivari, M. T., Garberg, V., Lura, D., Francis, G. S., Simon, A. B., and Rector, T. (1984). Plasma norepinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure. *N Engl J Med* 311, 819-823.
- Cohn, J. N.**, Pfeffer, M. A., Rouleau, J., Sharpe, N., Swedberg, K., Straub, M., Wiltse, C., and Wright, T. J. (2003). Adverse mortality effect of central sympathetic inhibition with sustained-release moxonidine in patients with heart failure (MOXCON). *Eur J Heart Fail* 5, 659-667.
- Collins, R.**, Peto, R., MacMahon, S., Hebert, P., Fiebach, N. H., Eberlein, K. A., Godwin, J., Qizilbash, N., Taylor, J. O., and Hennekens, C. H. (1990). Blood pressure, stroke, and coronary heart disease. Part 2, Short-term reductions in blood pressure: overview of randomised drug trials in their epidemiological context. *Lancet* 335, 827-838.
- Colucci, W. S.** (1998). The effects of norepinephrine on myocardial biology: implications for the therapy of heart failure. *Clin Cardiol* 21, I20-24.

- Covell, J. W.** (1990). Factors influencing diastolic function. Possible role of the extracellular matrix. *Circulation* 81, III155-158.
- Cuniberti, L. A., Stutzbach, P. G., Guevara, E., Yannarelli, G. G., Laguens, R. P., and Favalaro, R. R.** (2006). Development of mild aortic valve stenosis in a rabbit model of hypertension. *J Am Coll Cardiol* 47, 2303-2309.
- Dahlof, B., Devereux, R. B., Kjeldsen, S. E., Julius, S., Beevers, G., de Faire, U., Fyhrquist, F., Ibsen, H., Kristiansson, K., Lederballe-Pedersen, O., et al.** (2002). Cardiovascular morbidity and mortality in the Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomised trial against atenolol. *Lancet* 359, 995-1003.
- Dahlof, B., Herlitz, H., Aurell, M., and Hansson, L.** (1992). Reversal of cardiovascular structural changes when treating essential hypertension. The importance of the renin-angiotensin-aldosterone system. *Am J Hypertens* 5, 900-911.
- Dampney, R. A.** (1994). Functional organization of central pathways regulating the cardiovascular system. *Physiol Rev* 74, 323-364.
- Dampney, R. A., Czachurski, J., Dembowski, K., Goodchild, A. K., and Seller, H.** (1987). Afferent connections and spinal projections of the pressor region in the rostral ventrolateral medulla of the cat. *J Auton Nerv Syst* 20, 73-86.
- de la Bastie, D., Levitsky, D., Rappaport, L., Mercadier, J. J., Marotte, F., Wisnewsky, C., Brovkovich, V., Schwartz, K., and Lompre, A. M.** (1990). Function of the sarcoplasmic reticulum and expression of its Ca²⁺(+)-ATPase gene in pressure overload-induced cardiac hypertrophy in the rat. *Circ Res* 66, 554-564.
- de Simone, G., Devereux, R. B., Celentano, A., and Roman, M. J.** (1999). Left ventricular chamber and wall mechanics in the presence of concentric geometry. *J Hypertens* 17, 1001-1006.
- Dellsperger, K. C., Martins, J. B., Clothier, J. L., and Marcus, M. L.** (1990). Incidence of sudden cardiac death associated with coronary artery occlusion in dogs with hypertension and left ventricular hypertrophy is reduced by chronic beta-adrenergic blockade. *Circulation* 82, 941-950.
- Devereux, R. B., Alonso, D. R., Lutas, E. M., Gottlieb, G. J., Campo, E., Sachs, I., and Reichek, N.** (1986). Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *Am J Cardiol* 57, 450-458.
- Devereux, R. B., Pickering, T. G., Harshfield, G. A., Kleinert, H. D., Denby, L., Clark, L., Pregibon, D., Jason, M., Kleiner, B., Borer, J. S., and Laragh, J. H.** (1983). Left ventricular hypertrophy in patients with hypertension: importance of blood pressure response to regularly recurring stress. *Circulation* 68, 470-476.
- Diamond, J. A., and Phillips, R. A.** (2005). Hypertensive heart disease. *Hypertens Res* 28, 191-202.
- Dianzumba, S. B., DiPette, D., Joyner, C. R., Cornman, C., Townsend, R., Mauro, K., Weber, E., and Theobald, T.** (1990). Left ventricular filling in hypertensive blacks and whites following adrenergic blockade. *Am J Hypertens* 3, 48-51.
- Doering, C. W., Jalil, J. E., Janicki, J. S., Pick, R., Aghili, S., Abrahams, C., and Weber, K. T.** (1988). Collagen network remodelling and diastolic stiffness of the rat left ventricle with pressure overload hypertrophy. *Cardiovasc Res* 22, 686-695.
- Donoghue, S., Felder, R. B., Jordan, D., and Spyer, K. M.** (1984). The central projections of carotid baroreceptors and chemoreceptors in the cat: a neurophysiological study. *J Physiol* 347, 397-409.
- Dupuy, L., Urosevic, D., Grenay, H., Quaglia, W., Pignini, M., Brasili, L., Dontenwill, M., and Bousquet, P.** (2004). II imidazoline receptor-mediated effects on apoptotic processes in PC12 cells. *Cell Death Differ* 11, 1049-1052.

- Ebinger, M. W.**, Krishnan, S., and Schuger, C. D. (2005). Mechanisms of ventricular arrhythmias in heart failure. *Curr Heart Fail Rep* 2, 111-117.
- Edwards, L.**, Fishman, D., Horowitz, P., Bourbon, N., Kester, M., and Ernsberger, P. (2001). The I1-imidazoline receptor in PC12 pheochromocytoma cells activates protein kinases C, extracellular signal-regulated kinase (ERK) and c-jun N-terminal kinase (JNK). *J Neurochem* 79, 931-940.
- El-Ayoubi, R.**, Gutkowska, J., Regunathan, S., and Mukaddam-Daher, S. (2002). Imidazoline receptors in the heart: characterization, distribution, and regulation. *J Cardiovasc Pharmacol* 39, 875-883.
- Elliott, H. L.** (1998). Moxonidine: pharmacology, clinical pharmacology and clinical profile. *Blood Press Suppl* 3, 23-27.
- Erdine, S.**, Ari, O., Zanchetti, A., Cifkova, R., Fagard, R., Kjeldsen, S., Mancia, G., Poulter, N., Rahn, K. H., Rodicio, J. L., *et al.* (2006). ESH-ESC guidelines for the management of hypertension. *Herz* 31, 331-338.
- Ernsberger, P.**, Westbrooks, K.L., Graff, L.M. (1991). I₁-imidazoline Sites in Rat Renal Medulla Binding Properties and Up-Regulation by Subpressor Angiotensin Infusion. *Hypertension* 18, 380.
- Ernsberger, P.**, Damon, T. H., Graff, L. M., Schafer, S. G., and Christen, M. O. (1993). Moxonidine, a centrally acting antihypertensive agent, is a selective ligand for I1-imidazoline sites. *J Pharmacol Exp Ther* 264, 172-182.
- Ernsberger, P.**, Graves, M. E., Graff, L. M., Zakieh, N., Nguyen, P., Collins, L. A., Westbrooks, K. L., and Johnson, G. G. (1995). I1-imidazoline receptors. Definition, characterization, distribution, and transmembrane signaling. *Ann N Y Acad Sci* 763, 22-42.
- Ernsberger, P.**, Kou, Y. R., and Prabhakar, N. R. (1998). Carotid body I1-imidazoline receptors: binding, visualization and modulatory function. *Respir Physiol* 112, 239-251.
- Ernsberger, P.**, Meeley, M. P., Mann, J. J., and Reis, D. J. (1987). Clonidine binds to imidazole binding sites as well as alpha 2-adrenoceptors in the ventrolateral medulla. *Eur J Pharmacol* 134, 1-13.
- Ernsberger, P.**, and Shen, I. H. (1997). Membrane localization and guanine nucleotide sensitivity of medullary I1-imidazoline binding sites. *Neurochem Int* 30, 17-23.
- Escudero, E. M.**, Camilion de Hurtado, M. C., Perez, N. G., and Tufare, A. L. (2004). Echocardiographic assessment of left ventricular midwall mechanics in spontaneously hypertensive rats. *Eur J Echocardiogr* 5, 169-175.
- Esler, M.**, Jennings, G., and Lambert, G. (1989). Noradrenaline release and the pathophysiology of primary human hypertension. *Am J Hypertens* 2, 140S-146S.
- Fan, J.**, and Watanabe, T. (2000). Transgenic rabbits expressing human apolipoprotein (a). *J Atheroscler Thromb* 7, 8-13.
- Farsang, C.**, Lengyel, M., Borbas, S., Zorandi, A., and Dienes, B. S. (2003). Value of rilmenidine therapy and its combination with perindopril on blood pressure and left ventricular hypertrophy in patients with essential hypertension (VERITAS). *Curr Med Res Opin* 19, 205-217.
- Ferrario, C. M.** (1974). Contribution of cardiac output and peripheral resistance to experimental renal hypertension. *Am J Physiol* 226, 711-717.
- Francis, G. S.**, Benedict, C., Johnstone, D. E., Kirlin, P. C., Nicklas, J., Liang, C. S., Kubo, S. H., Rudin-Toretsky, E., and Yusuf, S. (1990). Comparison of neuroendocrine activation in patients with left ventricular dysfunction with and without congestive heart failure. A substudy of the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD). *Circulation* 82, 1724-1729.

- Franz, W. M.**, Mueller, O. J., Hartong, R., Frey, N., and Katus, H. A. (1997). Transgenic animal models: new avenues in cardiovascular physiology. *J Mol Med* 75, 115-129.
- Friberg, P.**, Wahlander, H., and Nordlander, M. (1986). Structural and functional adaptations within the myocardium and coronary vessels after antihypertensive therapy in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens Suppl* 4, S519-521.
- Frolov, V. A.**, Drozdova, G. A., Mustyatsa, V. F., Rieger, P., Antoni, Z., and Kuzovkin, A. E. (2001). Possible mechanism of regression of myocardial hypertrophy. *Bull Exp Biol Med* 132, 644-646.
- Fujiwara, T.**, and Chiba, S. (1993). Vascular responsiveness of rabbit common carotid, renal and femoral arteries to alpha-adrenoceptor agonists. *Jpn J Pharmacol* 61, 171-176.
- Fulwiler, C. E.**, and Saper, C. B. (1984). Subnuclear organization of the efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain Res* 319, 229-259.
- Gallet, B.** (2003). Estimation des pressions de remplissage par échocardiographie-Doppler. *Propos Cardiologie, novembre*, 5-13.
- Garcia, M. J.**, Thomas, J. D., and Klein, A. L. (1998). New Doppler echocardiographic applications for the study of diastolic function. *J Am Coll Cardiol* 32, 865-875.
- Gatzka, C. D.**, and Kingwell, B. A. (2003). Arterial hypertension: cardiac structure and arterial stiffness. *J Hypertens* 21, 691-693.
- Gerdes, A. M.** (2002). Cardiac myocyte remodeling in hypertrophy and progression to failure. *J Card Fail* 8, S264-268.
- Gertz, E. W.** (1972). Cardiomyopathic Syrian hamster: a possible model of human disease. *Prog Exp Tumor Res* 16, 242-260.
- Giles, T. D.**, Thomas, M. G., Quiroz, A., Rice, J. C., Plauche, W., and Sander, G. E. (1987). Acute and short-term effects of clonidine in heart failure. *Angiology* 38, 537-548.
- Godwin, S. J.**, Tortelli, C. F., Parkin, M. L., and Head, G. A. (1998). Comparison of the baroreceptor-heart rate reflex effects of moxonidine, rilmenidine and clonidine in conscious rabbits. *J Auton Nerv Syst* 72, 195-204.
- Goldstein, S.**, and Hjalmarson, A. (1999). The mortality effect of metoprolol CR/XL in patients with heart failure: results of the MERIT-HF Trial. *Clin Cardiol* 22 *Suppl* 5, V30-35.
- Gosse, P.**, Roudaut, R., Herrero, G., and Dallochio, M. (1990). Beta-blockers vs. angiotensin-converting enzyme inhibitors in hypertension: effects on left ventricular hypertrophy. *J Cardiovasc Pharmacol* 16 *Suppl* 5, S145-150.
- Gothert, M.**, Bruss, M., Bonisch, H., and Molderings, G. J. (1999). Presynaptic imidazoline receptors. New developments in characterization and classification. *Ann N Y Acad Sci* 881, 171-184.
- Gottdiener, J. S.**, Reda, D. J., Massie, B. M., Materson, B. J., Williams, D. W., and Anderson, R. J. (1997). Effect of single-drug therapy on reduction of left ventricular mass in mild to moderate hypertension: comparison of six antihypertensive agents. The Department of Veterans Affairs Cooperative Study Group on Antihypertensive Agents. *Circulation* 95, 2007-2014.
- Gradman, A. H.**, and Alfayoumi, F. (2006). From left ventricular hypertrophy to congestive heart failure: management of hypertensive heart disease. *Prog Cardiovasc Dis* 48, 326-341.
- Grassi, G.**, and Esler, M. (1999). How to assess sympathetic activity in humans. *J Hypertens* 17, 719-734.
- Grassi, G.**, Turri, C., Seravalle, G., Bertinieri, G., Pierini, A., and Mancia, G. (2001). Effects of chronic clonidine administration on sympathetic nerve traffic and baroreflex function in heart failure. *Hypertension* 38, 286-291.
- Greney, H.**, Ronde, P., Magnier, C., Maranca, F., Rascente, C., Quaglia, W., Giannella, M., Pignini, M., Brasili, L., Lugnier, C., *et al.* (2000). Coupling of I(1) imidazoline receptors to the

- cAMP pathway: studies with a highly selective ligand, benazoline. *Mol Pharmacol* 57, 1142-1151.
- Grossman, W.** (1991). Diastolic dysfunction in congestive heart failure. *N Engl J Med* 325, 1557-1564.
- Grossman, W., Jones, D., and McLaurin, L. P.** (1975). Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle. *J Clin Invest* 56, 56-64.
- Gunja-Smith, Z., Morales, A. R., Romanelli, R., and Woessner, J. F., Jr.** (1996). Remodeling of human myocardial collagen in idiopathic dilated cardiomyopathy. Role of metalloproteinases and pyridinoline cross-links. *Am J Pathol* 148, 1639-1648.
- Hall, J. E.** (1991). Renal function in one-kidney, one-clip hypertension and low renin essential hypertension. *Am J Hypertens* 4, 523S-533S.
- Hall, S. A., Cigarroa, C. G., Marcoux, L., Risser, R. C., Grayburn, P. A., and Eichhorn, E. J.** (1995). Time course of improvement in left ventricular function, mass and geometry in patients with congestive heart failure treated with beta-adrenergic blockade. *J Am Coll Cardiol* 25, 1154-1161.
- Han, J. L., Zhang, Y. Y., Lu, Z. Z., Mao, J. M., Chen, M. Z., and Han, Q. D.** (2003). Functional alpha1-adrenergic receptor subtypes in human right gastroepiploic artery. *Acta Pharmacol Sin* 24, 327-331.
- Hasenfuss, G.** (1998). Animal models of human cardiovascular disease, heart failure and hypertrophy. *Cardiovasc Res* 39, 60-76.
- Head, G. A., and Burke, S. L.** (2004). Sympathetic responses to stress and rilmenidine in 2K1C rabbits: evidence of enhanced nonvascular effector mechanism. *Hypertension* 43, 636-642.
- Heilbrunn, S. M., Shah, P., Bristow, M. R., Valantine, H. A., Ginsburg, R., and Fowler, M. B.** (1989). Increased beta-receptor density and improved hemodynamic response to catecholamine stimulation during long-term metoprolol therapy in heart failure from dilated cardiomyopathy. *Circulation* 79, 483-490.
- Hein, L., Altman, J. D., and Kobilka, B. K.** (1999). Two functionally distinct alpha2-adrenergic receptors regulate sympathetic neurotransmission. *Nature* 402, 181-184.
- Hermiller, J. B., Magorien, R. D., Leithe, M. E., Unverferth, D. V., and Leier, C. V.** (1983). Clonidine in congestive heart failure: a vasodilator with negative inotropic effects. *Am J Cardiol* 51, 791-795.
- Hoffmann, U., Globits, S., Stefenelli, T., Loewe, C., Kostner, K., and Frank, H.** (2001). The effects of ACE inhibitor therapy on left ventricular myocardial mass and diastolic filling in previously untreated hypertensive patients: a cine MRI study. *J Magn Reson Imaging* 14, 16-22.
- Hunt, S. A., Baker, D. W., Chin, M. H., Cinquegrani, M. P., Feldman, A. M., Francis, G. S., Ganiats, T. G., Goldstein, S., Gregoratos, G., Jessup, M. L., et al.** (2001). ACC/AHA Guidelines for the Evaluation and Management of Chronic Heart Failure in the Adult: Executive Summary A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Revise the 1995 Guidelines for the Evaluation and Management of Heart Failure): Developed in Collaboration With the International Society for Heart and Lung Transplantation; Endorsed by the Heart Failure Society of America. *Circulation* 104, 2996-3007.
- Hunter, W. C.** (2000). Role of myofilaments and calcium handling in left ventricular relaxation. *Cardiol Clin* 18, 443-457.
- Huting, J., Mitrovic, V., Thormann, J., Bahavar, H., and Schlepper, M.** (1991). Left ventricular muscle mass and diastolic function in patients with essential hypertension under long-term clonidine monotherapy. *Clin Cardiol* 14, 134-140.

- Imamura, T.**, McDermott, P. J., Kent, R. L., Nagatsu, M., Cooper, G. t., and Carabello, B. A. (1994). Acute changes in myosin heavy chain synthesis rate in pressure versus volume overload. *Circ Res* 75, 418-425.
- Inoko, M.**, Kihara, Y., Morii, I., Fujiwara, H., and Sasayama, S. (1994). Transition from compensatory hypertrophy to dilated, failing left ventricles in Dahl salt-sensitive rats. *Am J Physiol* 267, H2471-2482.
- Isoyama, S.**, Ito, N., Satoh, K., and Takishima, T. (1992). Collagen deposition and the reversal of coronary reserve in cardiac hypertrophy. *Hypertension* 20, 491-500.
- Izumo, S.**, Lompre, A. M., Matsuoka, R., Koren, G., Schwartz, K., Nadal-Ginard, B., and Mahdavi, V. (1987). Myosin heavy chain messenger RNA and protein isoform transitions during cardiac hypertrophy. Interaction between hemodynamic and thyroid hormone-induced signals. *J Clin Invest* 79, 970-977.
- Izumo, S.**, Nadal-Ginard, B., and Mahdavi, V. (1988). Protooncogene induction and reprogramming of cardiac gene expression produced by pressure overload. *Proc Natl Acad Sci U S A* 85, 339-343.
- Izzo, P. N.**, Deuchars, J., and Spyer, K. M. (1993). Localization of cardiac vagal preganglionic motoneurons in the rat: immunocytochemical evidence of synaptic inputs containing 5-hydroxytryptamine. *J Comp Neurol* 327, 572-583.
- Jalil, J. E.**, Doering, C. W., Janicki, J. S., Pick, R., Shroff, S. G., and Weber, K. T. (1989). Fibrillar collagen and myocardial stiffness in the intact hypertrophied rat left ventricle. *Circ Res* 64, 1041-1050.
- Janicki, J. S.**, and Brower, G. L. (2002). The role of myocardial fibrillar collagen in ventricular remodeling and function. *J Card Fail* 8, S319-325.
- Jarajapu, Y. P.**, Hillier, C., and MacDonald, A. (2001). The alpha(1A)-adrenoceptor subtype mediates contraction in rat femoral resistance arteries. *Eur J Pharmacol* 422, 127-135.
- Jarajapu, Y. P.**, McGrath, J. C., Hillier, C., and MacDonald, A. (2003). The alpha 1-adrenoceptor profile in human skeletal muscle resistance arteries in critical limb ischaemia. *Cardiovasc Res* 57, 554-562.
- Jasper, J. R.**, Lesnick, J. D., Chang, L. K., Yamanishi, S. S., Chang, T. K., Hsu, S. A., Daunt, D. A., Bonhaus, D. W., and Eglen, R. M. (1998). Ligand efficacy and potency at recombinant alpha2 adrenergic receptors: agonist-mediated [35S]GTPgammaS binding. *Biochem Pharmacol* 55, 1035-1043.
- John, S. W.**, Krege, J. H., Oliver, P. M., Hagaman, J. R., Hodgins, J. B., Pang, S. C., Flynn, T. G., and Smithies, O. (1995). Genetic decreases in atrial natriuretic peptide and salt-sensitive hypertension. *Science* 267, 679-681.
- Jondeau, G.**, Allaert, F. A., and Leurs, I. (2004). [Management of heart failure by French general practitioners in 2003]. *Arch Mal Coeur Vaiss* 97, 833-839.
- Kannel, W. B.** (1991). Left ventricular hypertrophy as a risk factor: the Framingham experience. *J Hypertens Suppl* 9, S3-8; discussion S8-9.
- Kawai, K.**, Qin, F., Shite, J., Mao, W., Fukuoka, S., and Liang, C. S. (2004). Importance of antioxidant and antiapoptotic effects of beta-receptor blockers in heart failure therapy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 287, H1003-1012.
- Kaye, D. M.**, Lefkowitz, J., Jennings, G. L., Bergin, P., Broughton, A., and Esler, M. D. (1995). Adverse consequences of high sympathetic nervous activity in the failing human heart. *J Am Coll Cardiol* 26, 1257-1263.
- Keating, G. M.**, and Jarvis, B. (2003). Carvedilol: a review of its use in chronic heart failure. *Drugs* 63, 1697-1741.
- Kihara, Y.**, and Sasayama, S. (1997). Transition from compensatory hypertrophy to dilated failing left ventricle in Dahl-Iwai salt-sensitive rats. *Am J Hypertens* 10, 78S-82S.

- Kirberger, R. M.**, and Berry, W. L. (1992). Atrial septal defect in a dog: the value of Doppler echocardiography. *J S Afr Vet Assoc* 63, 43-47.
- Kobayashi, M.**, Machida, N., Mitsuishi, M., and Yamane, Y. (2004). Beta-blocker improves survival, left ventricular function, and myocardial remodeling in hypertensive rats with diastolic heart failure. *Am J Hypertens* 17, 1112-1119.
- Kobinger** (1978). Central alpha-adrenergic systems as targets for hypotensive drugs. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 81, 39-100.
- Kobinger, W.** (1967). [On the mechanism of action of a new antihypertensive substance with imidazoline structure]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Exp Pathol Pharmacol* 258, 48-58.
- Koldas, L.**, Ayan, F., and Ikitimur, B. (2003). Short-term effects of rilmenidine on left ventricular hypertrophy and systolic and diastolic function in patients with essential hypertension: comparison with an angiotensin converting enzyme inhibitor and a calcium antagonist. *Jpn Heart J* 44, 693-704.
- Kono, T.**, Sabbah, H. N., Rosman, H., Alam, M., Stein, P. D., and Goldstein, S. (1992). Left atrial contribution to ventricular filling during the course of evolving heart failure. *Circulation* 86, 1317-1322.
- Krishnan, P.**, Ventura, H. O., Uber, P. A., Arcement, L. M., and Mehra, M. R. (2003). Treatment of hypertension for patients with diastolic dysfunction. *Curr Opin Cardiol* 18, 272-277.
- Laragh, J. H.** (1991). On the mechanisms and clinical relevance of one-kidney, one-clip hypertension. *Am J Hypertens* 4, 541S-545S.
- Lechat, P.**, Packer, M., Chalon, S., Cucherat, M., Arab, T., and Boissel, J. P. (1998). Clinical effects of beta-adrenergic blockade in chronic heart failure: a meta-analysis of double-blind, placebo-controlled, randomized trials. *Circulation* 98, 1184-1191.
- Ledingham, J. M.** (1991). Sodium retention and volume expansion as mechanisms. *Am J Hypertens* 4, 534S-540S.
- Leicht, M.**, Greipel, N., and Zimmer, H. (2000). Comitogenic effect of catecholamines on rat cardiac fibroblasts in culture. *Cardiovasc Res* 48, 274-284.
- Leimbach, W. N., Jr.**, Wallin, B. G., Victor, R. G., Aylward, P. E., Sundlof, G., and Mark, A. L. (1986). Direct evidence from intraneural recordings for increased central sympathetic outflow in patients with heart failure. *Circulation* 73, 913-919.
- Lepran, I.**, and Papp, J. G. (1994). Effect of moxonidine on arrhythmias induced by coronary artery occlusion and reperfusion. *J Cardiovasc Pharmacol* 24 *Suppl 1*, S9-15.
- Li, K.**, He, H., Li, C., Sirois, P., and Rouleau, J. L. (1997). Myocardial alpha1-adrenoceptor: inotropic effect and physiologic and pathologic implications. *Life Sci* 60, 1305-1318.
- Li, P.**, Penner, S. B., and Smyth, D. D. (1994). Attenuated renal response to moxonidine and rilmenidine in one kidney-one clip hypertensive rats. *Br J Pharmacol* 112, 200-206.
- Li, P.**, and Smyth, D. D. (1993). Suppressed renal response to 2,6-dimethyl clonidine but not clonidine in one kidney-one clip hypertensive rats. *J Pharmacol Exp Ther* 267, 1395-1400.
- Link, R. E.**, Desai, K., Hein, L., Stevens, M. E., Chruscinski, A., Bernstein, D., Barsh, G. S., and Kobilka, B. K. (1996). Cardiovascular regulation in mice lacking alpha2-adrenergic receptor subtypes b and c. *Science* 273, 803-805.
- Liu, D. D.**, Yang, C. C., Lee, R. P., and Chen, H. I. (2000). Opposition of rapid baroreceptor resetting by prostanoids in rabbits. *Chin J Physiol* 43, 15-21.
- Long, C. S.**, Kariya, K., Karns, L., and Simpson, P. C. (1992). Sympathetic modulation of the cardiac myocyte phenotype: studies with a cell-culture model of myocardial hypertrophy. *Basic Res Cardiol* 87 *Suppl 2*, 19-31.

- Mancia, G.**, Grassi, G., Giannattasio, C., and Seravalle, G. (1999). Sympathetic activation in the pathogenesis of hypertension and progression of organ damage. *Hypertension* 34, 724-728.
- Mann, D. L.**, Kent, R. L., Parsons, B., and Cooper, G. t. (1992). Adrenergic effects on the biology of the adult mammalian cardiocyte. *Circulation* 85, 790-804.
- Manolis, A. J.**, Olympios, C., Sifaki, M., Handanis, S., Bresnahan, M., Gavras, I., and Gavras, H. (1995). Suppressing sympathetic activation in congestive heart failure. A new therapeutic strategy. *Hypertension* 26, 719-724.
- Manolis, A. J.**, Olympios, C., Sifaki, M., Handanis, S., Cokkinos, D., Bresnahan, M., Gavras, I., and Gavras, H. (1997). Combined sympathetic suppression and angiotensin-converting enzyme inhibition in congestive heart failure. *Hypertension* 29, 525-530.
- Manolis, A. J.**, Olympios, C., Sifaki, M., Smirnioudis, N., Handanis, S., Argirakis, S., Katsaros, C., Gavras, I., and Gavras, H. (1998). Chronic sympathetic suppression in the treatment of chronic congestive heart failure. *Clin Exp Hypertens* 20, 717-731.
- Mark, A. L.** (1996). The sympathetic nervous system in hypertension: a potential long-term regulator of arterial pressure. *J Hypertens Suppl* 14, S159-165.
- Masotti, G.**, Scarti, L., Poggesi, L., Sciagra, R., Bisi, G., Gallini, C., and Neri Serneri, G. G. (1986). Treatment of hypertensive emergencies: classic and newer approaches. *J Cardiovasc Pharmacol* 8 *Suppl* 3, S46-50.
- Masson, S.**, Arosio, B., Luvara, G., Gagliano, N., Fiordaliso, F., Santambrogio, D., Vergani, C., Latini, R., and Annoni, G. (1998). Remodelling of cardiac extracellular matrix during beta-adrenergic stimulation: upregulation of SPARC in the myocardium of adult rats. *J Mol Cell Cardiol* 30, 1505-1514.
- Masuyama, T.**, Yamamoto, K., Sakata, Y., Doi, R., Nishikawa, N., Kondo, H., Ono, K., Kuzuya, T., Sugawara, M., and Hori, M. (2000). Evolving changes in Doppler mitral flow velocity pattern in rats with hypertensive hypertrophy. *J Am Coll Cardiol* 36, 2333-2338.
- Matsui, H.**, Shimosawa, T., Uetake, Y., Wang, H., Ogura, S., Kaneko, T., Liu, J., Ando, K., and Fujita, T. (2006). Protective effect of potassium against the hypertensive cardiac dysfunction: association with reactive oxygen species reduction. *Hypertension* 48, 225-231.
- Maurice, J. P.**, Shah, A. S., Kypson, A. P., Hata, J. A., White, D. C., Glower, D. D., and Koch, W. J. (1999). Molecular beta-adrenergic signaling abnormalities in failing rabbit hearts after infarction. *Am J Physiol* 276, H1853-1860.
- McCloskey, D. T.**, Turnbull, L., Swigart, P., O'Connell, T. D., Simpson, P. C., and Baker, A. J. (2003). Abnormal myocardial contraction in alpha(1A)- and alpha(1B)-adrenoceptor double-knockout mice. *J Mol Cell Cardiol* 35, 1207-1216.
- McElroy, N. D.**, and Zimmerman, B. G. (1990). Contractility of intrarenal arteries in Goldblatt hypertensive rabbits. *Hypertension* 15, 753-760.
- McIntosh, M. A.**, Hicks, M. N., Kane, K. A., Rankin, A. C., and Cobbe, S. M. (1994). A characterized model of left ventricular hypertrophy in the rabbit. *Cardioscience* 5, 95-100.
- Messerli, F. H.** (2001). Doxazosin and congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 38, 1295-1296.
- Mitchell, J. A.**, Ventura, H. O., and Mehra, M. R. (2005). Early recognition and treatment of hypertensive heart disease. *Curr Opin Cardiol* 20, 282-289.
- Mitrovic, V.**, Patyna, W., Huting, J., and Schlepper, M. (1991). Hemodynamic and neurohumoral effects of moxonidine in patients with essential hypertension. *Cardiovasc Drugs Ther* 5, 967-972.
- Modersohn, D.**, Franz, N., Heublein, B., Panzner, B., Walde, T., and Bruch, L. (1994). Acute influence of beta-adrenergic antagonists on left ventricular diastolic function: contrasting results after administration of celiprolol and metoprolol. *J Hum Hypertens* 8, 127-132.

- Molderings, G. J.**, Likungu, J., and Gothert, M. (1999). Presynaptic cannabinoid and imidazoline receptors in the human heart and their potential relationship. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 360, 157-164.
- Monassier, L.**, Greney, H., Thomas, L., and Bousquet, P. (2004). Chronic treatment with rilmenidine in spontaneously hypertensive rats: differences between two schedules of administration. *J Cardiovasc Pharmacol* 43, 394-401.
- Moran, A. M.**, Friehs, I., Takeuchi, K., Stamm, C., Hammer, P. E., McGowan, F. X., del Nido, P. J., and Colan, S. D. (2003). Noninvasive serial evaluation of myocardial mechanics in pressure overload hypertrophy of rabbit myocardium. *Herz* 28, 52-62.
- Mottram, P. M.**, Haluska, B. A., Leano, R., Carlier, S., Case, C., and Marwick, T. H. (2005). Relation of arterial stiffness to diastolic dysfunction in hypertensive heart disease. *Heart* 91, 1551-1556.
- Mottram, P. M.**, and Marwick, T. H. (2005). Assessment of diastolic function: what the general cardiologist needs to know. *Heart* 91, 681-695.
- Muders, F.**, and Elsner, D. (2000). Animal models of chronic heart failure. *Pharmacol Res* 41, 605-612.
- Mukaddam-Daher, S.** (2006). Natriuretic peptides as therapeutic targets. *Expert Opin Ther Targets* 10, 239-252.
- Mukaddam-Daher, S.**, and Gutkowska, J. (2004). Imidazoline receptors in the heart: a novel target and a novel mechanism of action that involves atrial natriuretic peptides. *Braz J Med Biol Res* 37, 1239-1245.
- Mukaddam-Daher, S.**, Lambert, C., and Gutkowska, J. (1997). Clonidine and ST-91 may activate imidazoline binding sites in the heart to release atrial natriuretic peptide. *Hypertension* 30, 83-87.
- Mundhenke, M.**, Schwartzkopff, B., and Strauer, B. E. (1997). Structural analysis of arteriolar and myocardial remodelling in the subendocardial region of patients with hypertensive heart disease and hypertrophic cardiomyopathy. *Virchows Arch* 431, 265-273.
- Naber, C. K.**, and Siffert, W. (2004). Genetics of human arterial hypertension. *Minerva Med* 95, 347-356.
- Nagueh, S. F.**, Kopelen, H. A., Lim, D. S., Zoghbi, W. A., Quinones, M. A., Roberts, R., and Marian, A. J. (2000). Tissue Doppler imaging consistently detects myocardial contraction and relaxation abnormalities, irrespective of cardiac hypertrophy, in a transgenic rabbit model of human hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 102, 1346-1350.
- Nakane, T.**, and Chiba, S. (1987). Postjunctional alpha-adrenoceptor subtypes in isolated and perfused canine epicardial coronary arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* 10, 651-657.
- Naqvi, T. Z.** (2003). Diastolic function assessment incorporating new techniques in Doppler echocardiography. *Rev Cardiovasc Med* 4, 81-99.
- N'Guyen van Cao, A.**, Levy, B., and Slama, R. (1988). Noninvasive study of cardiac structure and function after rilmenidine for essential hypertension. *Am J Cardiol* 61, 72D-75D.
- Nicholas, A. P.**, Pieribone, V., and Hokfelt, T. (1993). Distributions of mRNAs for alpha-2 adrenergic receptor subtypes in rat brain: an in situ hybridization study. *J Comp Neurol* 328, 575-594.
- Nicolle, A. P.**, Carlos Sampedrano, C., Fontaine, J. J., Tessier-Vetzel, D., Goumi, V., Pelligand, L., Pouchelon, J. L., and Chetboul, V. (2005). Longitudinal left ventricular myocardial dysfunction assessed by 2D colour tissue Doppler imaging in a dog with systemic hypertension and severe arteriosclerosis. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 52, 83-87.

- Nishikawa, N.**, Masuyama, T., Yamamoto, K., Sakata, Y., Mano, T., Miwa, T., Sugawara, M., and Hori, M. (2001). Long-term administration of amlodipine prevents decompensation to diastolic heart failure in hypertensive rats. *J Am Coll Cardiol* 38, 1539-1545.
- Nishimura, R. A.**, and Tajik, A. J. (1997). Evaluation of diastolic filling of left ventricle in health and disease: Doppler echocardiography is the clinician's Rosetta Stone. *J Am Coll Cardiol* 30, 8-18.
- Nodari, S.**, Metra, M., Dei Cas, A., and Dei Cas, L. (2003a). Efficacy and tolerability of the long-term administration of carvedilol in patients with chronic heart failure with and without concomitant diabetes mellitus. *Eur J Heart Fail* 5, 803-809.
- Nodari, S.**, Metra, M., and Dei Cas, L. (2003b). Beta-blocker treatment of patients with diastolic heart failure and arterial hypertension. A prospective, randomized, comparison of the long-term effects of atenolol vs. nebivolol. *Eur J Heart Fail* 5, 621-627.
- Norton, G. R.**, Woodiwiss, A. J., Gaasch, W. H., Mela, T., Chung, E. S., Aurigemma, G. P., and Meyer, T. E. (2002). Heart failure in pressure overload hypertrophy. The relative roles of ventricular remodeling and myocardial dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 39, 664-671.
- Oliver, P.M.**, Fox, J.E., Kim, R., Rockman, H.A., Kim, H.S., Reddick, R.L., Pandey, K.N., Milgram, S.L., Smithies, O. and Maeda, N. (1997). Hypertension, Cardiac Hypertrophy, and Sudden Death in Mice Lacking Natriuretic Peptide Receptor A. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 94, 14730-14735.
- Ommen, S. R.** (2001). Echocardiographic assessment of diastolic function. *Curr Opin Cardiol* 16, 240-245.
- Ono, K.**, Masuyama, T., Yamamoto, K., Doi, R., Sakata, Y., Nishikawa, N., Mano, T., Kuzuya, T., Takeda, H., and Hori, M. (2002). Echo doppler assessment of left ventricular function in rats with hypertensive hypertrophy. *J Am Soc Echocardiogr* 15, 109-117.
- Oparil, S.** (1986). The sympathetic nervous system in clinical and experimental hypertension. *Kidney Int* 30, 437-452.
- Parkin, M. L.**, Godwin, S. J., and Head, G. A. (2003). Importance of imidazoline-preferring receptors in the cardiovascular actions of chronically administered moxonidine, rilmenidine and clonidine in conscious rabbits. *J Hypertens* 21, 167-178.
- Patterson, J. H.**, Adams, K. F., Jr., Applefeld, M. M., Corder, C. N., and Masse, B. R. (1994). Oral torsemide in patients with chronic congestive heart failure: effects on body weight, edema, and electrolyte excretion. *Torsemide Investigators Group. Pharmacotherapy* 14, 514-521.
- Penner, S. B.**, and Smyth, D. D. (1994). Central and renal I1 imidazoline preferring receptors: two unique sites mediating natriuresis in the rat. *Cardiovasc Drugs Ther* 8 *Suppl* 1, 43-48.
- Pennock, G. D.**, Yun, D. D., Agarwal, P. G., Spooner, P. H., and Goldman, S. (1997). Echocardiographic changes after myocardial infarction in a model of left ventricular diastolic dysfunction. *Am J Physiol* 273, H2018-2029.
- Perlini, S.**, Ferrero, I., Palladini, G., Tozzi, R., Gatti, C., Vezzoli, M., Cesana, F., Janetti, M. B., Clari, F., Busca, G., *et al.* (2006). Survival benefits of different antiadrenergic interventions in pressure overload left ventricular hypertrophy/failure. *Hypertension* 48, 93-97.
- Phillips, R. A.**, Goldman, M. E., Ardeljan, M., Arora, R., Eison, H. B., Yu, B. Y., and Krakoff, L. R. (1989). Determinants of abnormal left ventricular filling in early hypertension. *J Am Coll Cardiol* 14, 979-985.
- Piletz, J. E.**, and Sletten, K. (1993). Nonadrenergic imidazoline binding sites on human platelets. *J Pharmacol Exp Ther* 267, 1493-1502.

- Pingitore, A.**, Picano, E., Paterni, M., and Passera, M. (2001). Stress-induced changes in subendocardial tissue texture in hypertrophic cardiomyopathy: an echocardiographic videodensitometric study. *Int J Cardiovasc Imaging* 17, 245-252.
- Plehn, J. F.**, Foster, E., Grice, W. N., Huntington-Coats, M., and Apstein, C. S. (1993). Echocardiographic assessment of LV mass in rabbits: models of pressure and volume overload hypertrophy. *Am J Physiol* 265, H2066-2072.
- Raasch, W.**, Chun, K. R. J., Dendorfer, A., and Dominiak, P. (2000). Positive inotropic effects of imidazoline derivatives are not mediated via imidazoline binding sites but alpha1-adrenergic receptors. *Jpn J Pharmacol* 84, 1-6.
- Radwanska, A.**, and Kaliszan, R. (1993). Comparative analysis of effects of imidazoline drugs on isolated rat heart atria. *J Physiol Pharmacol* 44, 73-87.
- Rauch, A. L.**, and Campbell, W. G., Jr. (1988). Synthesis of catecholamines in the hypothalamus and brainstem in one-kidney, one clip and two-kidney, one clip hypertension in rabbits. *J Hypertens* 6, 537-541.
- Rials, S. J.**, Xu, X., Wu, Y., Liu, T., Marinchack, R. A., and Kowey, P. R. (2001). Restoration of normal ventricular electrophysiology in renovascular hypertensive rabbits after treatment with losartan. *J Cardiovasc Pharmacol* 37, 317-323.
- Rials, S. J.**, Xu, X., Wu, Y., Marinchak, R. A., and Kowey, P. R. (1998). Regression of LV hypertrophy with captopril normalizes membrane currents in rabbits. *Am J Physiol* 275, H1216-1224.
- Rossvoll, O.**, and Hatle, L. K. (1993). Pulmonary venous flow velocities recorded by transthoracic Doppler ultrasound: relation to left ventricular diastolic pressures. *J Am Coll Cardiol* 21, 1687-1696.
- Rouot, B.**, Leclerc, G., and Wermuth, C. G. (1976). Clonidine and related analogues. Quantitative correlations. *J Med Chem* 19, 1049-1054.
- Ruffolo, R. R., Jr.**, and Feuerstein, G. Z. (1998). Neurohormonal activation, oxygen free radicals, and apoptosis in the pathogenesis of congestive heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol* 32 *Suppl 1*, S22-30.
- Sadowski, Z.**, Szwed, H., Kuch-Wocial, A., Kubasik, A., Januszewicz, W., Krupa-Wojciechowska, B., Polak, G., Stejfa, M., Dvorak, I., Balazovjeh, I., *et al.* (1998). Regression of left ventricular hypertrophy in hypertensive patients after 1 year of treatment with rilmenidine: a double-blind, randomized, controlled (versus nifedipine) study. *J Hypertens Suppl* 16, S55-62.
- Safar, M. E.** (1989). Rilmenidine: a novel antihypertensive agent. *Am J Med* 87, 24S-29S.
- Sanbe, A., James, J., Tuzcu, V., Nas, S., Martin, L., Gulick, J., Osinska, H., Sakthivel, S., Klevitsky, R., Ginsburg, K. S., *et al.* (2005). Transgenic rabbit model for human troponin I-based hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 111, 2330-2338.
- Sannajust, F.**, Cerutti, C., Koenig-Berard, E., and Sassard, J. (1992). Influence of anaesthesia on the cardiovascular effects of rilmenidine and clonidine in spontaneously hypertensive rats. *Br J Pharmacol* 105, 542-548.
- Sasaki, O.**, Hamada, M., and Hiwada, K. (2000). Effects of coronary blood flow on left ventricular function in essential hypertensive patients. *Hypertens Res* 23, 239-245.
- Schlaich, M. P.**, Lambert, E., Kaye, D. M., Krozowski, Z., Campbell, D. J., Lambert, G., Hastings, J., Aggarwal, A., and Esler, M. D. (2004). Sympathetic augmentation in hypertension: role of nerve firing, norepinephrine reuptake, and Angiotensin neuromodulation. *Hypertension* 43, 169-175.
- Schobel, H. P.**, Langenfeld, M., Gatzka, C., and Schmieder, R. E. (1996). Treatment and post-treatment effects of alpha- versus beta-receptor blockers on left ventricular structure and function in essential hypertension. *Am Heart J* 132, 1004-1009.

- Schwartzkopff, B.**, Mundhenke, M., and Strauer, B. E. (1995). Remodelling of intramyocardial arterioles and extracellular matrix in patients with arterial hypertension and impaired coronary reserve. *Eur Heart J 16 Suppl I*, 82-86.
- Schwartzkopff, B.**, Mundhenke, M., and Strauer, B. E. (1998). Alterations of the architecture of subendocardial arterioles in patients with hypertrophic cardiomyopathy and impaired coronary vasodilator reserve: a possible cause for myocardial ischemia. *J Am Coll Cardiol 31*, 1089-1096.
- Sen, S.**, Tarazi, R. C., Khairallah, P. A., and Bumpus, F. M. (1974). Cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *Circ Res 35*, 775-781.
- Separovic, D.**, Kester, M., and Ernsberger, P. (1996). Coupling of I1-imidazoline receptors to diacylglyceride accumulation in PC12 rat pheochromocytoma cells. *Mol Pharmacol 49*, 668-675.
- Separovic, D.**, Kester, M., Haxhiu, M. A., and Ernsberger, P. (1997). Activation of phosphatidylcholine-selective phospholipase C by I1-imidazoline receptors in PC12 cells and rostral ventrolateral medulla. *Brain Res 749*, 335-339.
- Shapiro, L. M.**, and McKenna, W. J. (1984). Left ventricular hypertrophy. Relation of structure to diastolic function in hypertension. *Br Heart J 51*, 637-642.
- Sherman, L. G.**, Liang, C. S., Baumgardner, S., Charuzi, Y., Chardo, F., and Kim, C. S. (1986). Piretanide, a potent diuretic with potassium-sparing properties, for the treatment of congestive heart failure. *Clin Pharmacol Ther 40*, 587-594.
- Shimizu, G.**, Hirota, Y., Kita, Y., Kawamura, K., Saito, T., and Gaasch, W. H. (1991). Left ventricular midwall mechanics in systemic arterial hypertension. Myocardial function is depressed in pressure-overload hypertrophy. *Circulation 83*, 1676-1684.
- Shimoyama, H.**, Sabbah, H. N., Rosman, H., Alam, M., and Goldstein, S. (1996). Effect of beta-blockade on left atrial contribution to ventricular filling in dogs with moderate heart failure. *Am Heart J 131*, 772-777.
- Shinke, T.**, Takeuchi, M., Takaoka, H., and Yokoyama, M. (1999). Beneficial effects of heart rate reduction on cardiac mechanics and energetics in patients with left ventricular dysfunction. *Jpn Circ J 63*, 957-964.
- Simon, G.**, Filep, J., and Zelles, T. (1990). Alpha adrenergic drugs inhibit [3H]-QNB binding to muscarinic receptors of rat heart, brain and parotid gland membranes. *Life Sci 47*, 2021-2025.
- Simonneaux, V.**, Ebadi, M., and Bylund, D. B. (1991). Identification and characterization of alpha 2D-adrenergic receptors in bovine pineal gland. *Mol Pharmacol 40*, 235-241.
- Simpson, P.** (1983). Norepinephrine-stimulated hypertrophy of cultured rat myocardial cells is an alpha 1 adrenergic response. *J Clin Invest 72*, 732-738.
- Simpson, P. C.**, Kariya, K., Karns, L. R., Long, C. S., and Karliner, J. S. (1991). Adrenergic hormones and control of cardiac myocyte growth. *Mol Cell Biochem 104*, 35-43.
- Sohn, D. W.**, Chai, I. H., Lee, D. J., Kim, H. C., Kim, H. S., Oh, B. H., Lee, M. M., Park, Y. B., Choi, Y. S., Seo, J. D., and Lee, Y. W. (1997). Assessment of mitral annulus velocity by Doppler tissue imaging in the evaluation of left ventricular diastolic function. *J Am Coll Cardiol 30*, 474-480.
- Stafford, R. S.**, Furberg, C. D., Finkelstein, S. N., Cockburn, I. M., Alehegn, T., and Ma, J. (2004). Impact of clinical trial results on national trends in alpha-blocker prescribing, 1996-2002. *Jama 291*, 54-62.
- Stefanadis, C.**, Manolis, A., Dernellis, J., Tsioufis, C., Tsiamis, E., Gavras, I., Gavras, H., and Toutouzas, P. (2001). Acute effect of clonidine on left ventricular pressure-volume relation in hypertensive patients with diastolic heart dysfunction. *J Hum Hypertens 15*, 635-642.

- Steinhilper, M. E.**, Cochrane, K. L., and Field, L. J. (1990). Hypotension in transgenic mice expressing atrial natriuretic factor fusion genes. *Hypertension* *16*, 301-307.
- Stergiopoulos, N.**, Meister, J. J., and Westerhof, N. (1994). Simple and accurate way for estimating total and segmental arterial compliance: the pulse pressure method. *Ann Biomed Eng* *22*, 392-397.
- Stypmann, J.**, Engelen, M. A., Breithardt, A. K., Milberg, P., Rothenburger, M., Breithardt, O. A., Breithardt, G., Eckardt, L., and Cordula, P. N. (2007). Doppler echocardiography and tissue Doppler imaging in the healthy rabbit: differences of cardiac function during awake and anaesthetised examination. *Int J Cardiol* *115*, 164-170.
- Sun, Y. P.**, Zhu, B. Q., Sievers, R. E., Glantz, S. A., and Parmley, W. W. (1994). Metoprolol does not attenuate atherosclerosis in lipid-fed rabbits exposed to environmental tobacco smoke. *Circulation* *89*, 2260-2265.
- Swedberg, K.**, Bristow, M. R., Cohn, J. N., Dargie, H., Straub, M., Wiltse, C., and Wright, T. J. (2002). Effects of sustained-release moxonidine, an imidazoline agonist, on plasma norepinephrine in patients with chronic heart failure. *Circulation* *105*, 1797-1803.
- Sy, G. Y.**, Bousquet, P., and Feldman, J. (2006). Opposite to alpha2-adrenergic agonists, an imidazoline II selective compound does not influence reflex bradycardia in rabbits. *Auton Neurosci* *128*, 19-24.
- Sy, G. Y.**, Bruban, V., Bousquet, P., and Feldman, J. (2001). Nitric oxide and central antihypertensive drugs: one more difference between catecholamines and imidazolines. *Hypertension* *37*, 246-249.
- Taillardat-Bertschinger, A.**, Martinet, C. A., Carrupt, P. A., Reist, M., Caron, G., Fruttero, R., and Testa, B. (2002). Molecular factors influencing retention on immobilized artificial membranes (IAM) compared to partitioning in liposomes and n-octanol. *Pharm Res* *19*, 729-737.
- Tamura, T.**, Onodera, T., Said, S., and Gerdes, A. M. (1998). Correlation of myocyte lengthening to chamber dilation in the spontaneously hypertensive heart failure (SHHF) rat. *J Mol Cell Cardiol* *30*, 2175-2181.
- Tanaka, T.**, Seki, A., Fujii, J., Kurihara, H., and Ikeda, M. (1982). Norepinephrine turnover in the cardiovascular tissues and brain stem of the rabbit during development of one-kidney and two-kidney Goldblatt hypertension. *Hypertension* *4*, 272-278.
- Teerlink, J. R.**, and Massie, B. M. (2000). The role of beta-blockers in preventing sudden death in heart failure. *J Card Fail* *6*, 25-33.
- Tekten, T.**, Onbasili, A. O., Ceyhan, C., Unal, S., and Discigil, B. (2003). Novel approach to measure myocardial performance index: pulsed-wave tissue Doppler echocardiography. *Echocardiography* *20*, 503-510.
- Thomas, L.**, Belmont, S., Christen, M. O., La Roche, B., and Monassier, L. (2004). Cardiovascular and survival effects of sympatho-inhibitors in adriamycin-induced cardiomyopathy in rats. *Fundam Clin Pharmacol* *18*, 649-655.
- Thomas, L.**, Gasser, B., Bousquet, P., and Monassier, L. (2003). Hemodynamic and cardiac anti-hypertrophic actions of clonidine in Goldblatt one-kidney, one-clip rats. *J Cardiovasc Pharmacol* *41*, 203-209.
- Thomas, W. P.**, Gaber, C. E., Jacobs, G. J., Kaplan, P. M., Lombard, C. W., Moise, N. S., and Moses, B. L. (1993). Recommendations for standards in transthoracic two-dimensional echocardiography in the dog and cat. Echocardiography Committee of the Specialty of Cardiology, American College of Veterinary Internal Medicine. *J Vet Intern Med* *7*, 247-252.
- Tibirica, E.**, Bricca, G., Dontenwill, M., Feldman, J., Grenay, H., Belcourt, A., Stutzmann, J., and Bousquet, P. (1993). The imidazoline receptors and the central regulation of the arterial blood pressure: a minireview. *Mem Inst Oswaldo Cruz* *88*, 317-325.

- Tippett, F. E.**, Padgett, G. A., Eyster, G., Blanchard, G., and Bell, T. (1987). Primary hypertension in a colony of dogs. *Hypertension* 9, 49-58.
- Toraa, M.**, Pouillard, F., Merlet, P., and Friemel, F. (1999). [Cardiac hypertrophy and coronary reserve in endurance athletes]. *Can J Appl Physiol* 24, 87-95.
- Traub, Y. M.**, Khoury, G., Groshar, D., Schneeweiss, A., and Marmor, A. (1990). Comparison of the acute effects of captopril and of nifedipine on left ventricular diastolic function in elderly hypertensive patients. *Jpn Heart J* 31, 799-808.
- Trimarco, B.**, Morisco, C., Sarno, D., Iovino, G., Argenziano, L., Russo, R., De Luca, N., and Volpe, M. (1995). Rilmenidine in patients with left ventricular hypertrophy: beyond the reduction of left ventricular mass. *J Cardiovasc Pharmacol* 26 Suppl 2, S29-33.
- Urban, R.**, Szabo, B., and Starke, K. (1994). Is the sympathoinhibitory effect of rilmenidine mediated by alpha-2 adrenoceptors or imidazoline receptors? *J Pharmacol Exp Ther* 270, 572-578.
- Van Kerckhoven, R.**, van Veen, T. A., Boomsma, F., Saxena, P. R., and Schoemaker, R. G. (2000). Chronic administration of moxonidine suppresses sympathetic activation in a rat heart failure model. *Eur J Pharmacol* 397, 113-120.
- Villars, P. S.**, Hamlin, S. K., Shaw, A. D., and Kanusky, J. T. (2004). Role of diastole in left ventricular function, I: Biochemical and biomechanical events. *Am J Crit Care* 13, 394-403; quiz 404-395.
- Vlachakis, N. D.**, Ransom, F., Kogosov, E., Woodcock, E., Alexander, N., and Maronde, R. F. (1984). Sympathetic activity and cardiac adrenergic receptors in one-kidney, one clip hypertension in rats. *Hypertension* 6, 654-659.
- Waagstein, F.**, Bristow, M. R., Swedberg, K., Camerini, F., Fowler, M. B., Silver, M. A., Gilbert, E. M., Johnson, M. R., Goss, F. G., and Hjalmarson, A. (1993). Beneficial effects of metoprolol in idiopathic dilated cardiomyopathy. Metoprolol in Dilated Cardiomyopathy (MDC) Trial Study Group. *Lancet* 342, 1441-1446.
- Wachtell, K.**, Palmieri, V., Olsen, M. H., Gerdts, E., Papademetriou, V., Nieminen, M. S., Smith, G., Dahlof, B., Aurigemma, G. P., and Devereux, R. B. (2002). Change in systolic left ventricular performance after 3 years of antihypertensive treatment: the Losartan Intervention for Endpoint (LIFE) Study. *Circulation* 106, 227-232.
- Weber, K. T.**, Pick, R., Janicki, J. S., Gadodia, G., and Lakier, J. B. (1988). Inadequate collagen tethers in dilated cardiopathy. *Am Heart J* 116, 1641-1646.
- Weber, K. T.**, Sun, Y., and Guarda, E. (1994). Structural remodeling in hypertensive heart disease and the role of hormones. *Hypertension* 23, 869-877.
- Weinstock, M.**, Gorodetsky, E., and Kalman, R. (1996). Renal denervation prevents sodium retention and hypertension in salt-sensitive rabbits with genetic baroreflex impairment. *Clin Sci (Lond)* 90, 287-293.
- White, W. B.**, Schulman, P., Karimeddini, M. K., and Smith, V. E. (1989). Regression of left ventricular mass is accompanied by improvement in rapid left ventricular filling following antihypertensive therapy with metoprolol. *Am Heart J* 117, 145-150.
- Yu, G. S.**, Han, Q. D., and Chen, M. Z. (1993). A new alpha 1-adrenergic receptor subtype with low affinity for 5-methyl-urapidil but insensitive to chlorethylclonidine. *Zhongguo Yao Li Xue Bao* 14, 492-495.
- Zhang, J.**, El-Mas, M. M., and Abdel-Rahman, A. A. (2001). Imidazoline I(1) receptor-induced activation of phosphatidylcholine-specific phospholipase C elicits mitogen-activated protein kinase phosphorylation in PC12 cells. *Eur J Pharmacol* 415, 117-125.
- Zhang, Y.**, and Cheng, Z. (2000). Sympathetic inhibition with clonidine prolongs survival in experimental chronic heart failure. *Int J Cardiol* 73, 157-162; discussion 163-154.

- Zhang, Y. H.**, Zhu, J., and Song, Y. C. (1998). Suppressing sympathetic activation with clonidine on ventricular arrhythmias in congestive heart failure. *Int J Cardiol* 65, 233-238.
- Zierhut, W.**, and Zimmer, H. G. (1989). Significance of myocardial alpha- and beta-adrenoceptors in catecholamine-induced cardiac hypertrophy. *Circ Res* 65, 1417-1425.
- Zile, M. R.**, Baicu, C. F., and Gaasch, W. H. (2004). Diastolic heart failure--abnormalities in active relaxation and passive stiffness of the left ventricle. *N Engl J Med* 350, 1953-1959.
- Zile, M. R.**, and Brutsaert, D. L. (2002). New concepts in diastolic dysfunction and diastolic heart failure: Part II: causal mechanisms and treatment. *Circulation* 105, 1503-1508.

PUBLICATIONS

ARTICLES

I. SIGNOLET, B. GASSER, P. BOUSQUET and L. MONASSIER

« Echocardiography in Conscious 1K,1C Goldblatt Rabbits Reveals Typical Features of Human Hypertensive Ventricular Diastolic Dysfunction. » Int. J. Cardiol. 2007 Nov.

I. SIGNOLET, P. BOUSQUET and L. MONASSIER

« Improvement of the Cardiac Diastolic Function by Chronic Centrally-Mediated Sympathetic Inhibition in 1K,1C Goldblatt Rabbits » Am J Hypertens. 2008 Jan ; 21(1) : 54-60.

POSTERS

European Society of Cardiology, Juin 2003, Strasbourg.

I. SIGNOLET, L. MONASSIER, P. BOUSQUET.

« Echographic Evaluation of the Left Ventricular Dysfunction Associated with Hypertension in 1K,1C Goldblatt Rabbit ».

7^{ème} congrès de la Société Française de Pharmacologie, Avril 2003, Lille.

I. SIGNOLET, L. MONASSIER, P. BOUSQUET.

« Effets Cardiovasculaires de la Rilmenidine chez le Lapin Hypertendu de Goldblatt 1K,1C ».

Journées de l'Hypertension Artérielle, Décembre 2003, Paris.

I. SIGNOLET, L. MONASSIER, P. BOUSQUET.

« Cardiovascular Effects of Rilmenidine in 1K,1C Goldblatt Hypertensive Rabbit ».

Fourteenth European Meeting on Hypertension, juin 2004, Paris.

I. SIGNOLET, L. MONASSIER, P. BOUSQUET.

« Cardioprotective Effects of the Centrally-Acting Sympatho-Inhibitor, Rilmenidine, in 1K1C Goldblatt Hypertensive Rabbits ».

9^{ème} Congrès de la Société Française de Pharmacologie, avril 2005, Bordeaux.

I. SIGNOLET, L. MONASSIER, P. BOUSQUET.

« Cardiovascular Effects of 3 Centrally-Acting Antihypertensive Drug in Experimental Hypertension Associated with Diastolic Dysfunction ».

22^{ème} Congrès Biologie et Pathologie du Cœur et des Vaisseaux (GRRC), avril 2005, Strasbourg.

I. SIGNOLET, L. MONASSIER, P. BOUSQUET.

« Cardiovascular Effects of 3 Centrally-Acting Antihypertensive Drug in Experimental Hypertension Associated with Diastolic Dysfunction ».

10^{ème} Congrès de la Société Française de Pharmacologie, avril 2006, Montpellier.

I.SIGNOLET, L. MONASSIER, P. BOUSQUET.

« Chronic Cardiac Effects of Rilmenidine, a Centrally-Acting Sympatho-Inhibitory Drug, in Rabbit's Hypertension and Heart Failure ».

Printemps de la Cardiologie (GRRC), mai 2006, Toulouse.

I.SIGNOLET, L. MONASSIER, P. BOUSQUET.

« Chronic Cardiac Effects of Rilmenidine, a Centrally-Acting Sympatho-Inhibitory Drug, in Rabbit's Hypertension and Heart Failure ».